

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES MORPHOLOGIQUES ET EXPÉRIMENTALES
SUR LE TRYPANOSOME DES RATS (Tr. Lewisi Kent.)

PAR MM. A. LAVERAN ET F. MESNIL

En novembre 1843, Gruby a décrit un Protozoaire parasite du sang de la grenouille, auquel il a donné le nom de *Trypanosoma*, en raison des ses mouvements en tarière ($\tau\pi\pi\alpha\nu\nu$ tarière, $\sigma\omega\mu\alpha$ corps); ce parasite avait été vu déjà par Gluge (1842) et Mayer (juillet 1843); Valentin avait observé (1841) un hématozoaire analogue chez la truite (*Salmo fario*¹).

Depuis lors des Trypanosomes ont été signalés chez un grand nombre d'animaux appartenant à l'embranchement des Vertébrés, et il a été démontré que plusieurs épizooties graves atteignant les animaux domestiques avaient pour agents pathogènes des Trypanosomes : Surra de l'Inde, Nagana ou maladie de la mouche tsétsé qui produit de si grands ravages dans certaines régions de l'Afrique, maladie du coït ou Dourine, commune notamment en Algérie.

La connaissance des Trypanosomes ayant acquis en pathologie vétérinaire une grande importance, il nous a semblé utile de reprendre l'étude de ces parasites.

* * *

Des parasites qui paraissent bien devoir être rapportés aux Trypanosomes ont été signalés en 1845 par Gros, dans le sang

1. G. VALENTIN, *Müllers Archiv*, p. 435. — G. GLUGE, même Rec., 1842, p. 148.
— GRUBY, Acad. des Sc., 1843, *Comptes Rendus*, XVII, p. 1134.

d'un mulot¹, et en 1850 par Chaussat, dans le sang de *Mus rattus*, à Aubusson², Lewis a décrit, en 1878, le Trypanosome des rats qu'il avait trouvé, au Bengale, dans le sang de *Mus decumanus* et de *Mus rufescens*³.

Tr. Lewisi est de tous les Trypanosomes celui qui se prête le mieux à une étude prolongée et à l'expérimentation. Il est facile de se procurer des rats d'égout infectés naturellement, facile de conserver le parasite, de l'inoculer à des rats blancs et de suivre son évolution. Il était donc indiqué de commencer par ce parasite notre étude des Trypanosomes ; nous avions d'ailleurs de bons guides.

Crookshank a donné du Trypanosome des rats une description plus complète que celle de Lewis ; il a bien vu la membrane ondulante et le flagelle⁴.

Danilewsky⁵ et Chalachnikow⁶ ont étudié avec soin ce parasite. Nous aurons souvent l'occasion de citer dans ce travail les excellents mémoires de L. Rabinowitsch et W. Kempner⁷ et de Wasielewski et G. Senn⁸ sur le Trypanosome des rats.

Plusieurs observateurs et Lewis lui-même⁹ ont admis que le Trypanosome des rats était identique au Trypanosome découvert par Evans, aux Indes, dans le sang des animaux atteints de Surra ; il est démontré aujourd'hui que ces parasites appartiennent à deux espèces bien distinctes au point de vue morphologique, comme au point de vue de l'action pathogène. Le Trypanosome du Nagana est probablement le même que celui du Surra, enfin le Trypanosome de la Dourine appartient à une espèce distincte ; nous n'avons donc pas à citer ici les travaux qui concernent spécialement l'étude de ces parasites.

Le Trypanosome découvert en 1881 par R. Koch et

1. GROS, *Bullet. Soc. Natural.*, Moscou, 1845.

2. CHAUSSAT, Thèse, Paris, 1850, n° 192.

3. T. LEWIS, *Annual Report of san. com. with Gov. of India*, 1878, Appendix 14 et Quart. *Journ. micr. sc.*, 1879.

4. CROOKSHANE, *Journ. of the R. microsc. Soc.*, nov. 1886, p. 913.

5. DANILEWSKY, *Arch. slaves de biologie*, 1886-1887, et *Rech. sur la parasitologie comparée du sang*. Kharkow, 1888-89.

6. CHALACHNIKOW, *Rech. sur les parasites du sang chez les animaux à sang froid et à sang chaud*. Kharkow, 1888.

7. L. RABINOWITSCH et W. KEMPNER, *Zeitschr. f. u. Hyg. Infectionskr.*, 1899, t. XXX, p. 231.

8. WASIELEWSKI et G. SENN, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infectionskr.*, 1900, t. XXXIII, p. 444.

9. LEWIS, *Quarter. Journal of microsc. Sci.*, 1884, t. XXIV, p. 357-369.

v. Wittich chez le hamster (*Cricetus Frumentarius*) paraît aussi appartenir à une espèce distincte de *Tr. Lewisi*¹.

Le Trypanosome des rats était rangé naguère dans le genre *Herpetomonas* Kent (1881); on supposait qu'il y avait des différences notables de structure entre ce parasite et les Trypanosomes des grenouilles et des poissons appartenant au genre *Trypanosoma* Gruby.

Il résulte des recherches comparatives que nous avons faites sur les Trypanosomes des rats et du Nagana d'une part, et sur le Trypanosome de la grenouille verte d'autre part, que ces parasites sont construits exactement sur le même type et que par suite il n'y a pas lieu de conserver le genre *Herpetomonas*².

I. — FRÉQUENCE DE L'INFECTION NATURELLE DES RATS D'ÉGOUT. —

MODES D'INFECTION. — LES RATS SEULS PEUVENT ÊTRE INFECTÉS PAR *Tr. Lewisi*.

Les rats d'égout sont souvent infectés de Trypanosomes; la fréquence de ces parasites a été constatée sur un grand nombre de points du globe.

T. R. Lewis, à Calcutta, a constaté que *Mus decumanus* et *Mus rufescens* étaient infectés dans la proportion de 29 0/0. Vandyke Carter, à Bombay, a trouvé des Trypanosomes chez 42 0/0 des rats examinés³.

Lingard, qui observait également aux Indes, indique une proportion de 30 0/0, qui se rapproche beaucoup de celle trouvée par Lewis⁴.

Crookshank, à Londres, a vu des Trypanosomes chez 25 0/0 des rats examinés.

R. Koch, à Daressalam, sur 24 rats capturés dans différentes maisons, en a trouvé 10 qui étaient infectés⁵.

Rabinowitsch et Kempner ont constaté qu'à Berlin les rats sauvages étaient infectés dans la proportion de 41,8 0/0. Il n'y avait pas de différence notable suivant les quartiers.

1. R. KOCH, *Mittheil. aus dem Kais. Gesundheitsamt*, 1881, t. I, p. 8.

2. A. LAVERAN et F. MESNIL, *Société de biologie*, 22 juin 1901, et *Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, 15 juillet 1901.

3. VANDYKE CARTER, *Scientific Memoirs by med. officers of the Army of India*, 1887, t. IV, p. 50.

4. LINGARD, *Report on Horse Surra*, Bombay, 1893-1895.

5. R. KOCH, *Reiseberichte über Rinderpest*, etc..., Berlin, 1898, p. 70.

A Paris, l'infection chez les rats d'égout (*Mus decumanus*) ne paraît pas commune; sur 43 rats examinés par nous, 2 seulement ont été trouvés infectés. A Lille, d'après les renseignements qui nous ont été fournis par M. le docteur Calmette, l'infection des rats d'égout est commune.

L'infection naturelle par les Trypanosomes n'a jamais été observée jusqu'ici chez les rats blancs ou tachetés; sur 83 rats de cette espèce examinés par L. Rabinowitsch et W. Kempner, aucun n'a été trouvé infecté; nous avons examiné plusieurs centaines de rats blancs sans en trouver un seul qui fût infecté naturellement de Trypanosomes. Cette absence d'infections naturelles par les Trypanosomes chez les rats blancs ou tachetés, qui sont cependant très sensibles à l'infection artificielle, rend ces animaux précieux pour l'étude de *Tr. Lewisi*.

Il est facile, comme l'a montré R. Koch, d'inoculer le Trypanosome du rat gris aux rats de même espèce ou bien aux rats blancs¹. Le procédé le plus sûr consiste à inoculer le sang contenant les Trypanosomes dans le péritoine des rats que l'on veut infecter; nos observations confirment absolument, sur ce point, celles de Rabinowitsch et Kempner. Nous n'avons jamais vu se produire d'accidents chez les animaux ainsi inoculés, lorsque le sang ne provenait pas d'animaux ayant des infections secondaires.

Les inoculations sous-cutanées réussissent également, mais l'apparition des Trypanosomes dans le sang est un peu moins rapide qu'après l'inoculation intra-péritonéale.

Tr. Lewisi ne se développe que chez les rats. Koch, Rabinowitsch et Kempner ont essayé sans succès d'inoculer le parasite à différents animaux: souris grises ou blanches, cobaye, lapin, chien, chèvre, cheval². Le hamster lui-même, qui cependant est souvent infecté par des Trypanosomes très voisins de *Tr. Lewisi*, s'est montré réfractaire.

Lorsqu'on inocule du sang de rats infectés à d'autres animaux, on peut trouver, pendant 24 ou 48 heures, quelques Trypanosomes dans le sang des animaux inoculés, mais les Trypanosomes ne se multiplient pas et ne tardent pas à disparaître.

1. R. KOCH, *Reiseberichte, loc. cit.*

2. Lingard dit avoir réussi à infecter différents animaux avec le Trypanosome des rats, mais Lingard, qui observait aux Indes, a confondu ce Trypanosome avec celui du Surra.

Après avoir injecté du sang riche en Trypanosomes (*Tr. Lewisi*), dans le péritoine de souris blanches, nous avons vu que les Trypanosomes se retrouvaient dans le péritoine et dans le sang après 24 heures; au bout de 48 heures ils avaient toujours disparu.

Le cobaye est, en dehors des rats, le seul animal chez lequel nous ayons observé un commencement d'infection par *Tr. Lewisi*. Lorsqu'on injecte dans le péritoine d'un cobaye, et surtout d'un jeune cobaye, du sang riche en Trypanosomes, on constate, au bout de 24 ou de 48 heures, des formes de multiplication très nombreuses dans le péritoine; les Trypanosomes se montrent en plus ou moins grand nombre dans le sang, mais bientôt ils disparaissent du sang, comme de l'exsudat périctonéal. Nous reviendrons plus loin sur les formes d'involution de *Tr. Lewisi* chez le cobaye.

L'infection naturelle chez les rats gris vivant à l'état sauvage paraît se faire par les puces et peut-être par les poux qui, après avoir sucé le sang des animaux infectés, vont piquer des animaux sains.

En écrasant des poux capturés sur des rats infectés, nous avons trouvé dans leur estomac, au milieu de sang hémolysé, des Trypanosomes; Rabinowitsch et Kempner n'ont pas réussi à voir des Trypanosomes en examinant des puces capturées sur des rats infectés, mais, en écrasant dans de l'eau physiologique quelques-uns de ces insectes, et en inoculant dans le péritoine de rats neufs cette dilution, ils ont produit des infections 5 fois sur 9. Ils ont fait en outre les expériences suivantes :

Un rat blanc infecté est mis avec des rats blancs non infectés; au bout de 11 à 15 jours on constate l'apparition de Trypanosomes dans le sang des rats neufs.

Des puces capturées sur des rats infectés sont portées sur de rats sains; chez un de ces rats, on voit apparaître au bout de quelques jours des Trypanosomes dans le sang.

Ces expériences paraissent démontrer que les puces jouent dans la transmission de *Tr. Lewisi* un rôle analogue à celui de la mouche tsétsé dans la transmission du Nagana.

Les essais d'infection par la voie stomacale ont toujours donné des résultats négatifs¹.

1. Les rats peuvent s'infecter en mangeant des aliments souillés avec le sang

Les parasites ne semblent pas pouvoir traverser le placenta. Lorsque des femelles pleines sont infectées, on ne trouve pas de Trypanosomes dans le sang des fœtus. Chaussat avait déjà signalé ce fait.

II. — TECHNIQUE POUR L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE *Tr. Lewisi*. —

OBSERVATION A L'ÉTAT FRAIS. — ACTION DE LA TEMPÉRATURE. —

LONGUE CONSERVATION A LA GLACIÈRE. — PROCÉDÉS DE COLORATION.

L'observation des Trypanosomes dans le sang frais est facile; on coupe l'extrémité de la queue d'un rat infecté, on recueille une goutte de sang sur une lame porte-objet et on recouvre avec une lamelle; le sang doit être étalé en couche mince; il importe, en effet, que les Trypanosomes ne soient pas dissimulés, sur tous les points de la préparation, au milieu des hématies. Les mouvements que les Trypanosomes impriment aux hématies permettent de reconnaître l'existence des parasites à un faible grossissement, ce qui facilite leur recherche quand ils sont en petit nombre dans le sang.

Dans les cas où l'on veut faire des observations prolongées, il faut employer les préparations en goutte pendante qui sont très utiles notamment pour l'étude du phénomène de l'agglutination. Le sang est mélangé à de l'eau physiologique ordinaire, puis désébriné à de l'eau physiologique citratée de manière à empêcher la coagulation, ou encore à du sérum de rat normal ou d'autres animaux. Lorsque nous avions besoin d'une certaine quantité de sang ou de sérum, les rats étaient saignés à la carotide, ce qui est facile, au moins chez les gros rats.

La durée de conservation des Trypanosomes dans les préparations en goutte pendante ou dans le sang conservé dans des tubes stérilisés est assez variable.

Danilewsky a observé des Trypanosomes vivants dans du sang de rat recueilli depuis 8 à 9 jours dans une pipette et conservé à la température du laboratoire. Les jeunes Trypanosomes peuvent résister, dit-il, un peu plus longtemps, soit 10 à 12 jours¹.

¹ Trypanosomes ou en dévorant d'autres rats infectés, mais à condition que le museau soit écorché. Rogers a fait, à ce sujet, des expériences très probantes avec le Trypanosome du Surra (*Proceed. of the R. Soc.*, 4 mai 1901).

¹ *Op. cit.*, p. 74.

Il résulte de nos observations que la température exerce une grande influence sur la durée de conservation de *Tr. Lewisi*.

Pendant l'été, les Trypanosomes conservés dans le laboratoire ne survivent guère au delà de 4 jours; en hiver, nous avons conservé du sang à Trypanosomes (mélangé à du sérum de rat, de poule ou de pigeon) en goutte pendante dans le laboratoire pendant 18 jours; au bout de ce temps, le sang était profondément altéré, mais on distinguait encore quelques Trypanosomes mobiles.

A la température de la glacière (5 à 7° C. au-dessus de 0) la durée de conservation de *Tr. Lewisi* augmente beaucoup¹. Nous avons trouvé des Trypanosomes mobiles dans du sang débriné, mélangé d'eau physiologique, conservé à la glacière depuis 30, 36, 44, 47, 49, 50, 51 et 52 jours.

Au sortir de la glacière, les mouvements des Trypanosomes sont ralenti, ils s'accélèrent à mesure que le sang se réchauffe.

L'observation suivante montre bien l'influence de la température sur la durée de la conservation de *Tr. Lewisi*.

Un rat blanc fortement infecté de Trypanosomes est saigné le 2 août 1900. Le sang, recueilli avec pureté dans la carotide, est mélangé d'eau physiologique à parties égales et désébriné. Un échantillon du sang est mis à la glacière le 2 août, un autre échantillon identique au premier est conservé à la température du laboratoire.

A. — Sang conservé à la température du laboratoire (15 à 20 degrés).

5 août. — Les Trypanosomes libres ou agglomérés ont des mouvements ralenti.

8 août. — On ne voit plus aucun Trypanosome mobile.

B. — Sang mis à la glacière.

5 août. — Les Trypanosomes isolés ou agglomérés en rosaces (voir ch. IV) sont animés de mouvements très vifs.

8 août. — Trypanosomes nombreux, très mobiles, formant souvent de grandes agglomérations.

15-24 août. — Trypanosomes isolés ou agglomérés, moins nombreux que lors de l'examen fait le 8 août; les mouvements sont ralenti.

18 septembre. — On trouve encore des Trypanosomes mobiles.

22 septembre. — On ne voit plus de Trypanosomes mobiles.

Dans ce cas, les Trypanosomes n'ont donc vécu que quatre à cinq jours dans le sang conservé au laboratoire, tandis que dans le sang mis à la glacière ils vivaient encore au bout d'un mois et demi.

Des échantillons de sang à Trypanosomes conservés à la

1. LAVERAN et MESNIL, *Soc. de biologie*, 6 octobre 1900.

glacière depuis 44, 47, 51 et 52 jours se sont montrés encore virulents, il y a eu seulement un retard dans l'apparition des Trypanosomes dans le sang des rats inoculés.

La durée de conservation est beaucoup diminuée si le sang n'a pas été recueilli avec pureté, et si des bactéries s'y développent en grand nombre.

Les Trypanosomes supportent assez bien une température de 41°; à 50° les mouvements se ralentissent rapidement et, au bout de 5 minutes, on ne voit plus aucun Trypanosome mobile.

On ne voit jamais apparaître des formes de multiplication dans le sang conservé soit en goutte pendante à la température du laboratoire, soit dans des tubes à la glacière. Comme les Trypanosomes s'agglomèrent sur certains points, on peut avoir parfois l'illusion d'une multiplication des parasites.

Pour observer les formes de multiplication, il faut examiner le sang d'un rat inoculé depuis 4 à 8 jours : au delà de ce laps de temps on ne trouve plus dans le sang que des Trypanosomes arrivés à leur développement complet ; c'est ainsi que chez les rats d'égout infectés naturellement et, en général, depuis assez longtemps, on chercherait en vain des formes de multiplication. En examinant l'exsudat péritonéal d'un rat inoculé dans le péritoine depuis 24 à 48 heures, on peut voir aussi des formes de multiplication en grand nombre.

Pour étudier la structure des Trypanosomes, il est indispensable d'avoir des préparations colorées et colorées d'après une méthode particulière. La méthode suivante¹ est celle qui nous a donné les meilleurs résultats.

Le sang est étalé en couche mince sur une lame porte-objet, séché rapidement, et fixé dans l'alcool absolu (10 à 15 minutes).

Les solutions qui suivent doivent être préparées à l'avance.
1^o Bleu de méthylène à l'oxyde d'argent ou *bleu Borrel*. Dans une fiole de 150 c. c. environ, on met quelques cristaux d'azotate d'argent et 50 à 60 c. c. d'eau distillée ; quand les cristaux sont dissous, on remplit la fiole avec une solution de soude et on agite ; il se forme un précipité noir d'oxyde d'argent qui est lavé à plusieurs reprises à l'eau distillée, de manière à enlever l'azotate de soude et l'excès de soude. On verse alors sur l'oxyde d'argent une solution aqueuse saturée de bleu de mé-

1. LAVERAN, *Soc. de biologie*, 9 juin 1900.

thylène préparée avec du bleu de méthylène médicinal de Höchst; on laisse en contact pendant 15 jours en agitant à plusieurs reprises; 2^o solution aqueuse d'éosine à 1 0/00 (éosine soluble dans l'eau de Höchst); 3^o solution de tannin à 5 0/0.

On prépare, *au moment de s'en servir*, le mélange colorant d'après la formule suivante :

Solution d'éosine à 1 0/00	4 centimètres cubes.
Eau distillée.....	6 —
Bleu Borrel.....	1 centimètre cube.

La lame porte-objet sur laquelle le sang a été étalé et fixé est plongée dans le mélange colorant qui a été versé dans une boîte de Pétri, par exemple, et on l'y laisse de 20 à 30 minutes.

Au sortir du bain la préparation est lavée à grande eau, puis traitée par la solution de tannin (10 à 15 minutes), on lave de nouveau à grande eau, puis à l'eau distillée et on sèche.

Lorsqu'il s'est formé un précipité qui gêne pour l'examen on lave à l'essence de girofle, puis au xylol, et on passe un linge fin trempé dans le xylol à la surface de la préparation.

Les préparations se conservent mieux à sec que dans le baume et surtout que dans l'huile de cèdre où elles se décolorent rapidement.

Lorsque la coloration est bien réussie, le protoplasme des Trypanosomes se colore en bleu clair, les noyaux se colorent en violet ainsi que les centrosomes et les flagelles, dans leur partie libre aussi bien que dans la partie qui borde la membrane ondulante; la membrane ondulante reste incolore ou prend une teinte bleuâtre très pâle. Les hématies sont colorées en rose, les noyaux des leucocytes en violet foncé.

Wasielewski et Senn ont obtenu de bons résultats en se servant de la méthode de Romanowsky modifiée par Nocht. La méthode de coloration indiquée plus haut nous paraît être d'un emploi plus facile et plus sûr que la méthode de Romanowsky primitive ou modifiée.

Lorsqu'on veut colorer rapidement une préparation contenant des Trypanosomes ou bien lorsqu'on n'a pas à sa disposition les colorants nécessaires pour appliquer la méthode que nous préconisons, on peut colorer avec la solution alcoolique

de fuchsine ou bien avec une solution de phénate de thionine. Le noyau, le centrosome et le flagelle se colorent plus fortement que le protoplasme, et l'on obtient ainsi des préparations qui suffisent, dans la pratique, quand il s'agit seulement de reconnaître l'existence des Trypanosomes et leur abondance.

Par le procédé de Heidenhain, le noyau, le centrosome et le flagelle se colorent plus fortement que le protoplasme, mais sont naturellement beaucoup moins apparents que lorsqu'ils prennent une teinte bien différente de celle du protoplasme, comme dans notre procédé et dans celui de Romanowsky.

III. — MORPHOLOGIE. — STRUCTURE DE *Tr. Lewisi*. — MODES DE MULTIPLICATION. — FORMES D'INVOLUTION. — DIFFÉRENCES MORPHOLOGIQUES AVEC QUELQUES TRYPANOSOMES VOISINS.

Nous examinerons : 1^o le parasite arrivé à son développement complet ; 2^o les formes de multiplication.

1^o *Forme adulte de Tr. Lewisi*. Dans le sang frais, *Tr. Lewisi* se présente sous l'aspect d'un vermicule très mobile qui est garni, d'un côté, d'une membrane ondulante ; les extrémités sont effilées et l'une d'elles se termine en flagelle.

Le parasite est toujours libre dans le plasma, à aucune période de son évolution il n'est endoglobulaire ; il se meut avec une grande vivacité au milieu des hématies auxquelles il imprime des mouvements très variés, sans les altérer d'ailleurs.

Les mouvements s'exécutent au moyen de la membrane ondulante et du flagelle ; de plus, le corps s'infléchit dans tous les sens tout en conservant sa forme. Lorsque les mouvements sont ralentis (ce qui arrive dans les préparations faites depuis quelque temps), on voit bien les ondulations en forme de vague de la membrane ondulante, ondulations qui se font tantôt dans un sens et tantôt dans l'autre.

Le Trypanosome se meut en général le flagelle en avant ; on doit donc considérer l'extrémité portant le flagelle comme l'extrémité antérieure ; c'est d'ailleurs la règle chez les Flagellés.

On distingue dans le protoplasme qui constitue le corps des Trypanosomes de fines granulations et souvent, vers la partie postérieure, une granulation assez réfringente qui correspond à ce que nous décrirons plus loin comme le centrosome.

Le noyau n'est pas apparent.

Tr. Lewisi mesure, flagelle compris, 24 à 25 μ de long sur 4 1/2 μ de large environ.

Après coloration par le procédé indiqué plus haut, la structure de *Tr. Lewisi* apparaît très nettement. (Fig. 1 et Pl. XI, fig. 1.) Dans le protoplasme coloré en bleu clair, on distingue le noyau (*n*) coloré en violet; un amas beaucoup plus petit de chromatine (*c*) situé vers l'extrémité postérieure se colore plus fortement; enfin, le long du bord libre de la membrane ondulante (*m*), un filament également coloré en violet se continue d'un côté avec le flagelle (*f*), tandis qu'à l'autre extrémité il aboutit au corpuscule indiqué dans la figure par la lettre *c*. La membrane ondulante, si l'on en excepte son bord épaissi, en continuité avec le flagelle, est incolore.

Le protoplasme contient souvent de fines granulations.

Le noyau situé d'ordinaire plus près de l'extrémité antérieure que de la postérieure a une forme allongée; à l'intérieur, des granulations se colorent plus fortement que la masse chromatique principale.

Le corpuscule (*c*) placé à la base du flagelle a été considéré par Rabinowitsch et Kempner, qui l'ont découvert, comme un nucléole, par Plimmer et Bradford¹ comme un micronucleus, par Wasielewski et Senn, qui ont vu ses rapports avec le flagelle, comme un épaissement du périplaste assimilable à un blépharoplaste. A plusieurs reprises, nous avons discuté la nature de ce corpuscule et cherché à démontrer qu'il s'agissait d'un centrosome². Nous ne reproduirons pas ici tous les arguments que nous avons fait valoir en faveur de cette opinion; nous rappellerons seulement que les corpuscules en question ont la plus grande ressemblance avec les centrosomes des Spermatozoïdes et avec ceux des Noctiluques. Dans les Trypanosomes, les noyaux se divisent par amitose; on ne peut donc pas saisir sur le fait le rôle centrosomique des corpuscules dont nous parlons. Il n'en est pas de même pour les Noctiluques; les divisions nucléaires préparatoires du bourgeonnement de ces Protozoaires sont du type mitosique, et l'existence de sphères attractives aux pôles des fuseaux de division a été démontrée.

1. PLIMMER et BRADFORD, *Centralbl. f. Bakter.*, I. Abtheil, XXVI, 1899.

2. LAVERAN et MESNIL, *Soc. de Biologie*, 17 novembre 1900 et 29 mars 1901.

Or, quand les divisions nucléaires sont finies et que les petits bourgeons se différencient, Ishikawa¹ a vu le flagelle de la jeune Noctiluque se développer à partir de la sphère attractive et probablement à ses dépens, et ce flagelle reste en rapport avec le corpuscule centrosomique.

Le centrosome qui se colore fortement se trouve en général au centre d'un espace clair; le flagelle s'arrête d'ordinaire ou paraît s'arrêter au bord de cet espace vacuolaire. Il n'est pas douteux d'ailleurs qu'il y ait continuité entre le flagelle et le corpuscule centrosomique. Quand des Trypanosomes se détruisent, dans du sang qui a été conservé quelque temps, ayant d'être desséché, on trouve parfois sur les préparations colorées des Trypanosomes en mauvais état, réduits au flagelle et au centrosome représentant pour ainsi dire le squelette du parasite (fig. 16) et, dans ces conditions, on constate nettement la continuité du flagelle avec le centrosome.

2^o *Formes de multiplication.* Les auteurs ne sont pas d'accord sur la manière dont *Tr. Lewisi* se multiplie.

D'après Danilewsky il faudrait distinguer : 1^o la division longitudinale qui se fait tandis que le Trypanosome est en mouvement ; 2^o la multiplication par segmentation ; dans ce dernier mode de division, le flagelle et la membrane ondulante disparaîtraient, le parasite prendrait une forme sphérique, et le noyau, en se divisant à plusieurs reprises, donnerait naissance à un nombre variable de jeunes éléments.

L. Rabinowitsch et Kempner admettent : 1^o une division longitudinale ; 2^o une division transversale ; 3^o la segmentation ; la membrane ondulante et le flagelle disparaîtraient complètement dans ce dernier cas.

D'après Wasielewski et Senn, tout le processus de division des Trypanosomes se réduit à une division longitudinale, comme chez les autres Flagellés, avec cette exception que chez le Trypanosome en voie de division, la cellule mère est toujours reconnaissable à ses dimensions qui dépassent celles de la cellule ou des cellules filles. La cellule mère et les cellules filles peuvent rester adhérentes pendant quelque temps de manière à constituer des espèces de rosaces. Wasielewski et Senn font des réserves au sujet de la segmentation primitive multiple, ils

¹ Ishikawa, *Journ. Coll. Sciences, Tokyo*, 1894 et 1899.

donnent cependant une figure de division dans laquelle on cherche en vain la cellule mère.

Les formes que revêt *Tr. Lewisi* au moment de sa multiplication sont très variées et, au premier abord, lorsqu'on examine une préparation dans laquelle ces formes de multiplication sont nombreuses, on a quelque peine à s'y reconnaître; on distingue de très gros Trypanosomes à côté de Trypanosomes très petits, certains Trypanosomes en voie de division ont conservé une forme à peu près normale, d'autres ont des formes singulières et des plus variées.

Dans le sang frais il est facile de constater, en raison de cette variété des formes, si les Trypanosomes sont ou non en voie de multiplication: mais c'est seulement sur des préparations bien colorées, par la méthode indiquée plus haut, que l'on peut étudier convenablement l'évolution de ces hématozoaires. L'examen du sang frais contenant des Trypanosomes en voie de multiplication révèle cependant un fait intéressant, c'est que les parasites, tandis qu'ils se divisent, continuent à se mouvoir, les mouvements sont seulement ralentis.

Soit une préparation de sang de rat bien colorée et riche en formes de multiplication de Trypanosomes. Si nous passons en revue un grand nombre de ces formes, il nous sera possible de les classer en deux groupes: groupe *a* représenté par les figures 2 à 5, groupe *b* représenté par les figures 6 à 9.

Groupe a. Le Trypanosome qui va se diviser augmente de volume, sa longueur atteint parfois 35 μ , sa largeur est triplée ou quadruplée (fig. 2 et Pl. XI, fig. 2). En même temps le noyau et le centrosome augmentent de volume, ce dernier prenant une forme allongée; la base du flagelle s'épaissit. Enfin le noyau se rapproche du centrosome.

A une phase plus avancée le noyau et le centrosome se divisent. Comme Rabinowitsch et Kempner, Wasielewski et Senn le font remarquer, il n'y a pas de règle absolue pour l'ordre dans lequel se fait cette division; tantôt c'est le centrosome qui se divise le premier et tantôt c'est le noyau.

En même temps que le centrosome, la base épaissie du flagelle se divise (fig. 3).

Le flagelle de nouvelle formation se sépare de l'ancien flagelle (Pl. XI, fig. 3) sans qu'il y ait dédoublement de ce dernier dans

toute sa longueur, et l'on a alors un gros Trypanosome avec deux noyaux, deux centrosomes et deux flagelles, l'un de ces flagelles étant beaucoup plus court que l'autre. Le flagelle de nouvelle formation s'allonge rapidement (fig. 4). Le protoplasme se divise à son tour ; on voit alors un petit Trypanosome à court

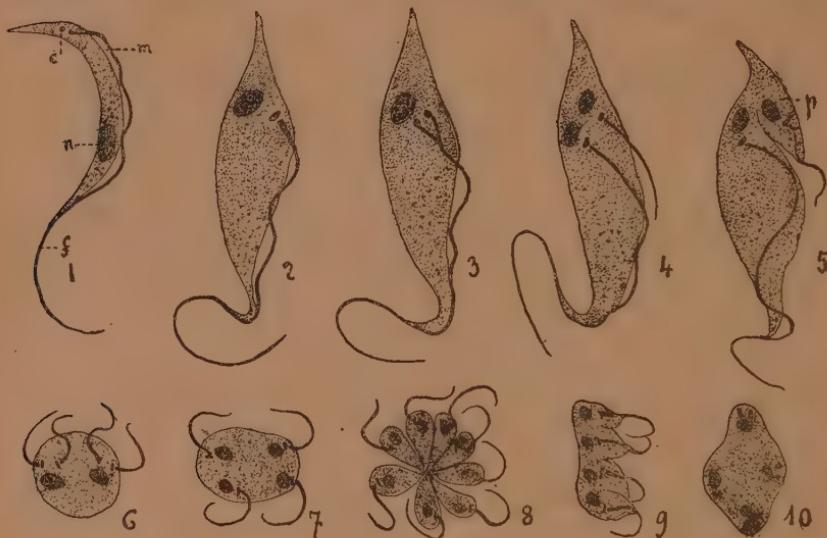


Fig. 4. Trypanosome arrivé à son développement complet, *n* noyau, *c* centrosome, *m* membrane ondulante, *f* flagelle. — Fig 2 à 5. Trypanosomes en voie de multiplication; la figure 5 montre un petit Trypanosome *p* sur le point de se séparer du Trypanosome mère. — Fig. 6 à 9. Autres aspects des formes de multiplication. — Fig. 10. Forme de multiplication insuffisamment colorée, les flagelles sont invisibles. (Gr. 2000 D environ).

flagelle qui adhère encore plus ou moins au Trypanosome mère (fig. 5 et Pl. XI, fig. 4). Avant que ce Trypanosome de nouvelle formation devienne libre, il peut se diviser et le Trypanosome mère peut donner naissance à d'autres parasites; ainsi s'expliquent les groupements qui se composent d'un grand Trypanosome et de plusieurs petits Trypanosomes. (Pl. XI, fig. 5) formant parfois des espèces de rosaces.

Groupe b. Les formes de multiplication de ce groupe diffèrent de celles du précédent par ce fait qu'on ne distingue plus de Trypanosome mère. Les éléments parasitaires, de dimensions variées, ont une forme sphérique, ovoïde ou irrégulière. Dans le protoplasme, on distingue des noyaux en nombre variable,

des centrosomes voisins des noyaux et, partant de ces centrosomes, des petits flagelles de même longueur.

Le nombre des noyaux est souvent de 2, 4, 8 ou 16. Le nombre des centrosomes peut être double de celui des noyaux parce que la division des centrosomes a précédé celle des noyaux (fig. 6).

Les noyaux, les centrosomes et les flagelles se divisent d'abord sans qu'il y ait trace de division du protoplasme (fig. 7); à un moment donné le protoplasme se dentelle à la périphérie (fig. 9) et se divise en fin de compte en autant d'éléments qu'il y a de noyaux et de centrosomes (fig. 8 et pl. XI, fig. 7). La multiplication des noyaux se fait toujours par division directe.

Dans les formes en voie de multiplication, on voit toujours les flagelles quand la coloration est suffisante. Au début de nos recherches sur *Tr. Lewisi*, nous obtenions souvent des figures analogues à certaines figures de Rabinowitsch et Kempner dans lesquelles les flagelles semblent avoir disparu; la figure 10 représente un de ces éléments, on distingue 4 noyaux et 8 centrosomes sans flagelles. Depuis que nous avons appris à mieux colorer les Trypanosomes, nous n'obtenons plus jamais de semblables figures, les flagelles sont toujours visibles, ce qui est en rapport avec ce que nous avons dit plus haut sur la mobilité des Trypanosomes en voie de division.

Les formes de multiplication du groupe *b* dérivent évidemment de celles du groupe *a*. Lorsque le petit Trypanosome *p* (fig. 5) s'est séparé du Trypanosome mère, son noyau, son centrosome et son flagelle continuant à se diviser, sans division concomitante du protoplasme, on comprend facilement l'apparition d'éléments analogues à ceux que représentent les figures 6, 7 et 9. Les petits éléments provenant de la dislocation des rosaces peuvent encore se diviser en deux (Pl. XI, fig. 8 et 9), ce qui explique l'existence de formes très petites.

En somme, le mode de multiplication du Trypanosome des rats est toujours le même; il y a toujours division du noyau, du centrosome et de la base du flagelle, mais les variétés d'aspects qui résultent de la division simple ou répétée de ces éléments et de la division précoce ou tardive du protoplasme sont nombreuses.

Tr. Lewisi présente dans l'organisme du cobaye certaines

modifications qu'il faut attribuer vraisemblablement à un processus d'involution. La culture qui se produit dans le péritoine à la suite de l'inoculation du sang contenant des Trypanosomes a un aspect anormal; les formes de multiplication sont encore plus variées que chez le rat, les très petites formes dominent. Au bout de 24 à 48 heures, les Trypanosomes de l'exsudat péritonéal et du sang présentent un point très réfringent qui, au premier aspect, pourrait être confondu avec le centrosome en



Fig. 11. Trypanosome dans le sang frais du cobaye, *v.* corpuscule réfringent. — 12. Trypanosome dans une préparation colorée du sang de cobaye, *c*, centrosome, *v*, vacuole. — 13 et 14. Trypanosomes colorés après un séjour de 20 jours à la glacière. — 15. Trypanosome déformé après être resté 9 jours en goutte suspendue (sang et sérum de poule). — 16. Centrosome et flagelle, reliquat d'un Trypanosome dans une préparation colorée.

raison de son siège constant non loin de l'extrémité postérieure; sur les préparations colorées il est facile de s'assurer que le centrosome a son aspect normal et que, à côté, il existe une vacuole arrondie, incolore, qui correspond évidemment au point réfringent observé chez le Trypanosome vivant.

La figure 11 représente un Trypanosome vu dans le sang frais du cobaye; la figure 12, un Trypanosome dans une préparation colorée de sang de cobaye.

Les Trypanosomes, conservés quelque temps en goutte suspendue, deviennent granuleux en même temps que leurs mouvements se ralentissent. De grosses granulations se forment chez les Trypanosomes qui sont à la glacière depuis quinze jours ou plus; ces granulations se colorent comme le centrosome et atteignent souvent le volume de ce dernier; leur nombre et

leur disposition sont variables. Les fig. 13 et 14 représentent deux Trypanosomes colorés après un séjour de 20 jours à la glacière.

La figure 15 représente un Trypanosome dans une préparation colorée faite avec du sang mélangé à du sérum de poule, et conservé en goutte suspendue pendant 9 jours; il s'est produit une déformation qui existait chez la plupart des Trypanosomes de cet échantillon de sang.

Lorsque les Trypanosomes sont morts, ils se déforment rapidement et deviennent méconnaissables.

Il n'est pas possible de donner ici les caractères différentiels de *Tr. Lewisi* et de tous les autres Trypanosomes : beaucoup de ces Trypanosomes (ceux du hamster, du cobaye, du lapin notamment) sont incomplètement connus.

Nous avons vu que quelques observateurs avaient admis l'identité de *Tr. Lewisi* et du Trypanosome du Surra qui est probablement le même que celui du Nagana (*Tr. Brucei*).

En dehors de l'action pathogène, si différente pour les deux espèces de parasites, on peut différencier *Tr. Lewisi* de *Tr. Brucei* en s'en tenant aux caractères morphologiques.

Les dimensions sont à peu près les mêmes, mais l'aspect général diffère : *Tr. Lewisi* est plus mince, plus effilé que *Tr. Brucei*, sa membrane ondulante est moins plissée que celle de ce dernier ; après coloration, on voit chez *Tr. Brucei* des granulations chromatiques plus grosses et plus nombreuses que chez *Tr. Lewisi*. L'extrémité postérieure de *Tr. Lewisi* est souvent plus effilée que celle de *Tr. Brucei*, mais il ne faut pas attribuer trop d'importance à ce caractère ; on trouve dans les deux espèces des individus qui diffèrent très peu à cet égard ; les formes de multiplication sont très différentes¹.

Koch rapporte que chez des rats infectés de *Tr. Lewisi* auxquels il avait inoculé *Tr. Brucei*, il a réussi à distinguer, dans les préparations histologiques du sang, les deux espèces de parasites². L. Rogers a fait des observations semblables aux Indes avec le Trypanosome du Surra³.

1. LAVERAN et MESNIL, *Soc. de biologie*, 29 mars 1904.

2. R. KOCH, *Reiseberichte über Rinderpest, etc.*, Berlin, 1898, p. 70.

3. L. ROGERS, *Proc. of the R. Soc.*, 4 mai 1904.

Lorsqu'on examine le sang frais des rats infectés simultanément avec *Tr. Lewisi* et *Tr. Brucei*, il est très difficile de distinguer les deux espèces de parasites; mais, sur des préparations colorées, le diagnostic ne présente plus de difficultés.

IV. — PHÉNOMÈNES D'AGGLOMÉRATION DES TRYPANOSOMES¹

Dans un certain nombre de conditions, les Trypanosomes se réunissent en amas très réguliers, qu'il est facile de caractériser. Les circonstances qui provoquent la formation de ces amas peuvent être groupées en deux catégories distinctes :

1^o L'agglomération se produit dans du sang désébriné conservé depuis un temps plus ou moins long à la glacière; le phénomène est toujours partiel. Il persiste jusqu'à la mort et la dégénérescence des flagellés (voir Ch. II);

2^o Quand on fait agir sur du sang désébriné à Trypanosomes, le sérum d'un certain nombre d'animaux, et en particulier celui de rats ayant reçu une ou plusieurs injections de sang à Trypanosomes, on constate une mise en amas rapide (quelques minutes) et souvent totale des Trypanosomes. Tantôt, les agglomérations persistent jusqu'à la mort des parasites; tantôt le phénomène est suivi d'une « désagglomération ». — Tous les phénomènes de cette seconde catégorie ont encore ceci de commun qu'ils sont produits par des substances que, par analogie avec ce que l'on sait des agglutinations bactériennes ou hématisques, on a le droit d'appeler des *agglutinines*, étant donnée leur façon de se comporter vis-à-vis de la chaleur.

Formation et morphologie des agglutinats. — Pour bien étudier la façon dont se forment les amas de Trypanosomes, il convient de s'adresser aux phénomènes de la première catégorie. Tout se passe avec une grande lenteur; l'intensité du phénomène n'est jamais considérable.

Un premier fait à noter et certainement le plus important de tous, car il va donner la clef de toutes les particularités que nous relèverons, c'est que la mise en amas des Trypanosomes n'est pas précédée de leur immobilisation. *Les Trypanosomes qui s'agglomèrent sont aussi mobiles que ceux qui, dans des préparations témoin ou dans la même préparation, restent isolés.*

1. Note préliminaire in *Comptes rendus Soc. Biologie*, 17 novembre 1900.

Le début de l'agglomération est toujours le même : deux Trypanosomes s'accroient par leurs extrémités postérieures non flagellifères¹ (Pl. XII, fig. 1) ; la zone de contact est toujours très faible ; elle suffit pour maintenir l'union des deux individus qui forment une ligne droite et se meuvent sur place avec vivacité².

Généralement, les choses n'en restent pas là ; d'autres individus viennent se joindre aux deux premiers et il se constitue une rosace d'un nombre variable d'éléments, disposés tous avec les extrémités postérieures au centre de l'amas, les flagelles libres et bien mobiles à la périphérie (Pl. XII, fig. 2). On peut arriver à avoir ainsi des amas formés d'une centaine d'individus et rien n'est plus curieux que de les observer : chaque Trypanosome a conservé ses mouvements propres ; il paraît chercher à se dégager, à s'échapper des entraves qui le retiennent et nous verrons qu'en fait, dans certains cas, il peut y parvenir. — Non rarement, surtout quand il s'agit d'amas se constituant dans du sang conservé à la glacière, on trouve au centre un leucocyte ou un amas d'hématoblastes plus ou moins avariés.

Mais les agglomérats ne se constituent pas toujours aussi lentement. En particulier, dans le cas des véritables agglutinines, on voit d'emblée un nombre assez grand de Trypanosomes s'unir pour constituer un amas. Ces Trypanosomes se dirigent l'un vers l'autre, sans présenter d'abord la moindre orientation ; cette période dure peu et il est fréquent qu'on n'arrive pas à la saisir. Bientôt en effet les Trypanosomes s'orientent ; toutes les extrémités postérieures viennent s'affronter et l'on a la disposition en rosace que nous avons décrite.

Mais, quand on a affaire à des sérum très agglutinants et en particulier à des sérum spécifiques, les choses peuvent se compliquer. Un certain nombre de rosaces se groupent et arrivent à constituer des *amas secondaires* énormes (Pl. XII, fig. 3) qui, par suite des mouvements de tous leurs composants, écartent les hématies qui les entourent ; on arrive alors à avoir, en gouttes pendantes, un phénomène visible à l'œil nu ; sur le

1. On peut avoir quelque hésitation sur les extrémités accolées quand on observe à l'état frais ; on n'en a pas quand on examine des préparations colorées. — Les figures de notre planche XII auxquelles nous renvoyons sont extraites de frottis colorés.

2. Quand nous étudierons le Trypanosome du Nagana, nous citerons des cas où l'agglutination se réduit à ces unions par deux.

fond rouge, apparaissent des taches claires à centre grisâtre.

Enfin, quand il y a persistance des agglutinats, on constate que les Trypanosomes du centre de ces amas secondaires finissent par s'immobiliser et entrer en dégénérescence; seuls, ceux de la périphérie conservent leur mobilité.

L'adhérence, dans tous ces cas, est souvent assez forte pour qu'on puisse étaler le sang en couche mince sans défaire les agglomérations. On peut alors obtenir de fort jolies préparations colorées; nous avons cherché, dans notre planche XII, à en donner une idée. Jamais nous n'avons observé la moindre altération morphologique des Trypanosomes qui viennent de s'agglomérer.

Agglomération de Trypanosomes morts ou paralysés... — Ordinairement, nous l'avons dit, les Trypanosomes agglutinés ont conservé leur mobilité. Que se passe-t-il quand on s'adresse à des Trypanosomes préalablement immobilisés? Nous avons pu résoudre cette question : 1^o en tuant les flagellés par le chloroforme ou le formol; 2^o en étudiant l'action de quelques-uns de nos sérumsp spécifiques qui se sont montrés, à fortes doses, paralysants pour les Trypanosomes.

Si l'on étale le sang à Trypanosomes en couche peu épaisse et qu'on le soumette aux vapeurs de chloroforme, tous les flagellés meurent entre 5 et 15 minutes et prennent un aspect granuleux; leurs contours deviennent peu nets et ils sont moins faciles à observer. Une trace de formol ajoutée au sang donne de meilleurs résultats; les Trypanosomes sont bien fixés et conservent toute leur réfringence.

Les sérumsp qui agglutinent les Trypanosomes vivants agglutinent également les Trypanosomes morts, et *vice versa*. Mais les agglomérations n'ont plus le caractère que nous avons décrit.

Les éléments y sont disposés tout à fait sans ordre. Ainsi, avec les Trypanosomes tués au chloroforme, on a des amas où les microbes dessinent un réseau à mailles plus ou moins serrées. Avec les Trypanosomes fixés au formol, les amas sont assez compacts, mais les Trypanosomes y sont disposés pêle-mêle.

Nos sérumsp paralysants (à partir d'une certaine dose) ne supprimaient pas totalement la mobilité des Trypanosomes; mais ils la restreignaient considérablement. Dans ces conditions, les amas formés étaient comparables à ceux obtenus avec les

Trypanosomes tués au formol ; souvent ils avaient la forme de gerbes. — A doses faibles, ces sérums ne se montraient sensiblement plus paralysants ; mais ils étaient encore très agglutinants ; on avait alors des rosaces.

Tous ces faits ne comportent, croyons-nous, qu'une interprétation. La forme des agglomérats, dans les cas ordinaires, est en rapport avec la mobilité des Trypanosomes. Dans un amas qui tend à se former, chaque Trypanosome cherche à s'échapper, son flagelle en avant ; la figure d'équilibre qui est réalisée est donc celle d'une rosace dont tous les individus ont l'extrémité postérieure au centre, le flagelle à la périphérie.

« Désagglomération. » — Cette considération de la mobilité des Trypanosomes permet aussi de se rendre compte d'un phénomène curieux que l'on observe souvent avec les agglomérations de Trypanosomes, et qui n'a jusqu'ici, et pour cause, jamais été signalé avec les agglutinations bactériennes.

Il arrive que des Trypanosomes, agglomérés presque aussitôt après leur mise en contact d'un sérum, redeviennent libres et isolés dans les heures qui suivent : les amas secondaires se désagrègent ; les rosaces, ou se désagrègent complètement, ou perdent un grand nombre de leurs éléments⁴. C'est là un fait tout à fait déconcertant quand on aborde l'étude de ces phénomènes. Il ne se produit pas avec tous les sérums et il se produit d'autant mieux avec un sérum déterminé que la dose employée est plus faible. D'autre part, il ne se manifeste qu'autant que les Trypanosomes ont une certaine mobilité. Grâce à leurs efforts, les Trypanosomes qui ne sont pas retenus par une force trop grande, arrivent à se dégager. Mais on conçoit que, si la mobilité des Trypanosomes diminue, il peut y avoir de nouveau réagglutination ; nous l'avons constaté quelquefois. On peut empêcher le phénomène de « désagglomération », en mettant les gouttes pendantes à la glacière ; et, nous savons que, dans ces conditions, si les Trypanosomes conservent longtemps leur vitalité, leur mobilité est diminuée.

A un autre point de vue, on se rend compte que, si notre manière d'interpréter le phénomène de désagglomération est exacte, son intensité est en raison inverse de la valeur agglutinante du sérum employé.

4. Les observations étaient faites en gouttes pendantes, à 15° en moyenne.

Vitalité et virulence des Trypanosomes agglomérés. — Nous avons fait un très grand nombre d'expériences à cet égard, surtout avec les sérumsp spécifiques dont nous étudions toujours avec soin les propriétés agglomérantes avant de les utiliser dans un but préventif; comme témoin, nous employons le même sang à Trypanosomes mélangé soit à de l'eau physiologique, soit à du sérum de rat neuf. Les mélanges étaient conservés soit en gouttes pendantes à la température du laboratoire (15° environ), soit en tubes fermés au coton, à la glacière.

Toujours, les mélanges agglutinés ont conservé aussi longtemps des Trypanosomes vivants que les autres; ces Trypanosomes se sont montrés aussi infectieux.

Une remarque doit néanmoins être faite; nous avons déjà dit que, dans le cas d'amas secondaires persistants, les Trypanosomes du centre de l'amas meurent assez vite. On ne saurait voir-là une exception à la règle: les Trypanosomes meurent comme conséquence secondaire de l'agglomération, par le fait qu'au centre des amas, ils se trouvent dans des conditions tout à fait défavorables pour leurs échanges vitaux. La survie des Trypanosomes périphériques plaide en faveur de cette interprétation.

Examinons maintenant les particularités de l'agglomération dans les différents cas où elle se produit.

Agglutinines spécifiques. — Le sérum des rats neufs [rats blancs ou pie (*Mus rattus*), rats d'égout (*Mus decumanus*)] n'est pas agglutinant¹.

Il acquiert, par suite d'inoculations successives de sang à Trypanosomes, des propriétés agglutinantes d'autant plus développées que l'immunisation a été poussée plus loin. Mais, déjà après une seule inoculation et lorsque l'infection est terminée, il a un pouvoir agglomérant très net. Même le sérum d'un rat en cours d'infection se montre légèrement agglutinant et quelquefois, comme nous le verrons, pour ses propres Trypanosomes.

Après 5 à 10 inoculations intrapéritonéales, les rats ont un sérum dont le titre agglutinant est variable de 5 à 50, c'est-à-dire qu'à une certaine quantité de sang défibriné, il faut ajouter,

1. Nous avons même observé qu'en ajoutant à du sang défibriné à Trypanosomes du sérum de rat, au lieu d'eau physiologique, ses Trypanosomes ne s'agglutinaient pas à la glacière.

suivant les cas, au moins 1/5 ou 1/50 de son volume de sérum, pour déterminer l'agglutination de ses Trypanosomes. En employant ces doses limites, on produit des agglutinations qui se défont presque complètement. Mais, à doses plus fortes, on a généralement des agglutinations persistantes, au moins en majorité; cela est toujours vrai quand le titre agglutinant d'un sérum est supérieur à 10.

Avec les sérums bien agglutinants, employés à doses au moins doubles de celle limite, on a généralement des amas secondaires. Enfin, nous avons déjà fait allusion aux cas de rats qui avaient reçu plus de 10 inoculations dont le sérum, à 1/20 (il n'a pas été essayé à dose plus faible), donnait des agglutinations persistantes et qui, à doses plus fortes, se montrait très nettement paralysant. L'un de ces rats qui, en 7 mois, avait reçu 13 inoculations, avait un sérum qui, à 1 sur 10, était assez paralysant pour qu'il ne se formât plus de rosaces de Trypanosomes agglutinés.

La propriété paralysante des sérums spécifiques se développe donc très tardivement au cours de l'immunisation, contrairement à ce qui a lieu pour les sérums antibactériens où elle est toujours liée à la propriété agglutinante.

Les sérums spécifiques renferment une véritable agglutinine. Le chauffage à 55-58°, pendant une 1/2 heure ou 3/4 d'heure, n'abaisse pas leur titre agglutinant; mais les agglutinations produites par ces sérums chauffés ne sont généralement pas aussi belles ni aussi persistantes que celles des sérums non chauffés. A la température de 63-65^o¹, maintenue pendant une demi-heure, toute trace de propriété agglutinante a disparu.

Le sérum d'un cobaye, qui avait reçu plusieurs injections de sang à Trypanosomes, s'est montré faiblement agglutinant; celui de cobaye neuf ne l'est pas du tout.

Agglutinines de divers sérums neufs. — Les sérums de cobaye, de pigeon et de grenouille ne manifestent pas de propriétés agglutinantes pour les Trypanosomes de sang de rat défibriné.

Ceux de mouton, de chien et de lapin sont peu agglutinants; il faut les employer à égalité de volume avec le sang à Trypano-

1. Le sérum de rat se coagule à cette température; il faut donc le mélanger à son volume d'eau physiologique; on obtient, après chauffage, un liquide très opalescent.

somes pour obtenir des résultats nets. Mais, même dans ces conditions, l'agglutination n'est jamais totale et l'on a généralement des rosaces d'un petit nombre d'éléments. Avec le sérum de lapin, la désagglutination est à peu près totale au bout de quelques heures. Les agglomérations persistent mieux avec les sérum de mouton et de chien; avec ce dernier même, on a quelques amas secondaires.

Les sérum de poule et de cheval sont beaucoup plus agglutinants que les précédents. Leur titre est compris entre 2 et 10; 1 goutte mélangée à 1 ou même 2 gouttes de sang à Trypanosomes détermine une agglomération complète des Trypanosomes; les rosaces sont formées d'un très grand nombre d'éléments, et on a d'énormes amas secondaires, au moins aussi gros que dans le cas des sérum spécifiques. Mais, avec ces sérum normaux, la désagglutination se produit toujours plus ou moins complètement.

L'agglutinine de ces sérum est influencée par la température, exactement comme celle des sérum spécifiques.

Il y a un certain parallélisme entre les pouvoirs agglutinants des sérum étrangers vis-à-vis des hématies du rat et vis-à-vis des Trypanosomes. Ainsi, parmi les sérum de mammifères étudiés, celui de cheval est le plus actif dans les deux cas. Celui de poule est très actif dans les deux cas, celui de pigeon pas du tout. Mais le titre agglutinant vis-à-vis des hématies est toujours beaucoup plus élevé que vis-à-vis des Trypanosomes; ainsi, pour un sérum de poule, le premier atteignait 20, tandis que le second était compris entre 4 et 5.

Dans ces divers sérum, les Trypanosomes, agglutinés ou non, se conservent longtemps. Les sérum de poule et de pigeon nous ont paru jouir de propriétés remarquables à cet égard (voir chapitre I).

Pouvoir agglutinant des humeurs de rats infectés pour leurs propres Trypanosomes. — Ce phénomène se manifeste surtout quand on examine, en gouttes pendantes, les humeurs péritonéales de rats immunisés activement ou passivement et injectés de Trypanosomes; mais on n'obtient ainsi que de petites rosaces qui persistent ou non.

Quelquefois, en examinant du sang d'un rat en cours d'infection, on constate chez les Trypanosomes, entre lame et lamelle,

une tendance manifeste à se grouper¹ et quelquefois on obtient de véritables rosaces; mais ces amas ne sont pas persistants.

Historique. — Ces phénomènes d'agglutination des Trypanosomes paraissent avoir été vus, pour la première fois, par Chalachnikow, dans ses essais de culture de *Trypanosoma Leucisi* dans le sérum de chien; ses prétendues formes de multiplication (pl. VII, fig. 27-28) sont incontestablement des rosaces d'agglutination.

Il est singulier que Rabinowitsch et Kempner qui ont, les premiers, préparé un sérum spécifique, déclarent que leur sérum n'avait aucune propriété agglutinante. Nous ne nous expliquons pas cette différence entre leurs résultats et les nôtres.

Dans les mémoires publiés sur le Surra et le Nagana, nous avons noté plusieurs allusions à des phénomènes que nous interprétons sans hésiter comme de l'agglutination.

Enfin, Bütschli², en étudiant les Flagellés du tube digestif d'un Nématode libre (*Trilobus gracilis*), a observé leur réunion en rosaces, toutes les extrémités postérieures convergeant au centre; il s'agit encore là évidemment de phénomènes d'agglutination³.

En résumé, le fait qui domine les phénomènes d'agglomération des Trypanosomes et qui leur imprime un caractère si spécial, c'est que les Trypanosomes restent mobiles. Au point de vue de la conception générale du phénomène d'agglutination, il prouve que, quand il s'agit d'éléments mobiles, l'immobilisation n'est pas nécessairement le prodrome de l'agglomération; ou, si l'on veut s'exprimer autrement, que les substances paralysante et agglutinante sont différentes. Certains faits tendent à faire soupçonner cette dualité en ce qui regarde les bactéries mobiles; le cas des Trypanosomes la met nettement en évidence.

Dans le cours de l'immunisation, la propriété agglutinante des sérums apparaît rapidement (même en cours d'infection);

1. Si l'on n'était pas prévenu, on pourrait songer à un prodrome de conjugaisons. C'est ainsi que STASSANO (*Société de Biologie*, janvier 1901) a interprété le phénomène.

2. BüTSCHLI, *Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, t. XXX, 1878, p. 216.

3. Tout récemment, Doflein a interprété ces figures comme stades de multiplication.

au contraire, la propriété paralysante ne se montre que chez des animaux hyperimmunisés et nous verrons plus loin que la propriété préventive la précède de longtemps.

On connaissait de nombreux sérumsp spécifiques agglutinants pour des bactéries, pour des cellules d'animaux supérieurs (hématies, etc.); nos recherches, dont le résumé a été publié en novembre 1900, ont ajouté à cette liste les animalcules inférieurs; celles toutes récentes de divers savants, les levures.

V. — MARCHE DE L'INFECTION CHEZ LES RATS ET LES COBAYES.

Infection des rats. — Le mémoire de Rabinowitsch et Kempner renferme des renseignements très précis sur les résultats d'inoculation de sang frais à Trypanosomes à des rats indemnes. Nous serons donc très brefs sur ce sujet que nous avons déjà effleuré dans le chapitre I.

Rabinowitsch et Kempner ont montré que l'injection intrapéritonéale constituait une méthode de choix; en fait, ils n'ont eu que 2 échecs sur une cinquantaine de rats domestiques. Sur une centaine de rats blancs ou pie, nous n'avons eu que 3 échecs. De ces 3 rats, 2 se sont montrés absolument réfractaires; l'un a reçu cinq inoculations, l'autre onze; aucune d'elles n'a été suivie d'apparition de Trypanosomes dans le sang. Un troisième rat a succombé 9 jours après une inoculation, sans avoir montré d'infection sanguine¹. Enfin, dans un quatrième cas, une première inoculation n'a donné aucun résultat; mais une deuxième a déterminé une infection très intense et de longue durée.

L'infection des rats domestiques, par voie péritonéale, comprend trois périodes bien distinctes. Une première de 3-4 jours où les Trypanosomes se multiplient activement dans la cavité abdominale; la multiplication ne commence guère que 24 ou 36 heures après l'injection; elle atteint son maximum pendant le troisième jour et cesse bientôt; les Trypanosomes disparaissent alors complètement du péritoine et n'y réapparaissent à aucune période de l'infection. L'importance de cette première période a été signalée par Rabinowitsch et Kempner; elle est très grande

1. Dans ces trois cas, il ne s'agissait pas de femelles pleines, comme pour les rats réfractaires de Rabinowitsch et Kempner. Toutes les femelles pleines que nous avons inoculées se sont montrées sensibles.

au point de vue de la diffusion du parasite. On trouve, dans le péritoine, à cette période, toutes les formes de multiplication que nous avons décrites dans la partie morphologique de ce travail ; les rosaces à petites formes dominent.

Le passage des Trypanosomes dans le système sanguin est plus ou moins rapide suivant les cas ; Rabinowitsch et Kempner, Wasielewski et Senn ne l'indiquent que du 3^e au 7^e jour, exceptionnellement au bout de un jour. Le passage dans les premières 24 heures nous a semblé, au contraire, être le cas le plus fréquent ; dans des cas non rares où l'examen du sang a été fait 5 ou 6 heures après l'inoculation, une quantité notable de Trypanosomes étaient déjà dans l'appareil circulatoire. Mais, à côté de ces passages rapides, il y a des cas où, à l'examen microscopique, on ne découvre de Trypanosomes dans le sang que 2 jours, 3 jours et même plus (jusqu'à 7 jours) après l'injection ; il s'agit alors généralement de vieux rats. Le passage rapide dans la circulation a lieu aussi pour la moitié environ de ces rats ; mais elle est surtout caractéristique des jeunes rats de 30 à 100 grammes, dont nous avons beaucoup usé.

C'est sans doute par une question de poids des rats mis en expérience que s'expliquent, en partie, les différences des résultats de nos prédécesseurs et des nôtres. Quant à l'influence du nombre de Trypanosomes inoculés sur la rapidité de l'infection sanguine, elle est faible, pourvu que la quantité de sang inoculé soit supérieure à 1/50 de centimètre cube.

Les premiers Trypanosomes qui apparaissent dans le sang sont des formes adultes minces ; ce sont évidemment des Trypanosomes inoculés. Mais rapidement (au bout de 48 heures fréquemment) se montrent des formes renflées se préparant à la reproduction. Ce n'est pourtant généralement que dans la 4^e journée que les Trypanosomes sont nombreux dans le sang, et que les formes de reproduction y abondent (*deuxième période*). La reproduction intrasanguine succède donc à la reproduction intrapéritonéale ; mais il y a toujours un nombre relativement moindre de formes de multiplication dans le sang que dans le péritoine, et cela est particulièrement vrai pour les rosaces à petites formes.

On observe généralement des Trypanosomes en voie de reproduction dans le sang jusqu'à la fin du 8^e jour, quelquefois

même un peu plus tard, surtout si l'apparition des flagellés y a été tardive. A partir de ce moment et jusqu'à la fin de l'infection, on ne trouve plus dans l'appareil circulatoire que des formes adultes minces ; nous n'y avons plus jamais observé de formes de multiplication. C'est la *troisième période*, qui dure un temps extrêmement variable.

En résumé, nous avons trois périodes : 1^o multiplication péritonéale ; 2^o multiplication sanguine ; 3^o période d'état.

Ce tableau de l'infection d'un rat ne s'applique bien qu'aux cas, nombreux d'ailleurs, où le sang renferme longtemps de très nombreux Trypanosomes : 1 pour 2-3 hématies, quelquefois même, mais exceptionnellement, 1 et 2 flagellés pour 1 globule rouge. L'infection dure alors au moins une vingtaine de jours, généralement deux mois, parfois 4 mois et plus. Quelquefois, elle cesse brusquement ; d'autres fois, la disparition des Trypanosomes est graduelle, elle peut durer un mois. Rarement, lorsque les Trypanosomes sont en décroissance, il y a de nouvelles poussées.

Mais l'infection peut être légère et ceci se présente assez fréquemment avec les vieux rats ; les Trypanosomes apparaissent assez tardivement dans le sang, ils ne deviennent jamais nombreux et ils disparaissent au bout de 2 à 8-10 jours. Ces rats n'en acquièrent pas moins, comme nous le verrons dans le chapitre suivant, l'immunité active.

Les inoculations sous-cutanées donnent fréquemment aussi un résultat positif ; mais la période de multiplication intrapéritonéale est supprimée ; l'infection du sang est aussi rapide, mais moins vite intense que dans le cas des infections par inoculation dans le péritoine.

Les quelques expériences que nous avons pu faire avec les rats d'égout nous permettent d'affirmer que la marche de l'infection est identique à celle que nous venons de décrire.

Infection avec le sang conservé. — Si le sang conservé à la glacière contient encore des Trypanosomes mobiles assez nombreux, le temps qui s'écoule entre le moment de l'inoculation et le début de l'infection sanguine n'est pas sensiblement allongé. Mais quand on opère avec du sang conservé depuis longtemps et où, à l'examen microscopique, on ne distingue que peu de Trypanosomes ou plus du tout, l'incubation est plus longue.

Du sang conservé 47 jours à la glacière et où les Trypanosomes étaient rares, a donné une infection assez longue, mais peu intense, à un rat (sur 2 inoculés), mais les Trypanosomes n'ont apparu dans le sang qu'entre le 6^e et le 9^e jour. Le même sang, conservé à la glacière 51 jours et ne montrant plus de Trypanosomes au microscope, a donné à un rat une infection semblable; apparition des Trypanosomes dans le sang au bout de 7 jours.

Des expériences de contrôle faites avec des traces de sang frais nous ont prouvé que le retard dans l'incubation ne tenait pas uniquement à la petite quantité de parasites inoculés; elle doit tenir surtout à leur état.

Les infections obtenues avec le sang conservé sont aussi intenses que celles réalisées avec le sang frais. Ainsi, la plus longue infection que nous ayons obtenue a eu pour point de départ l'inoculation d'un sang conservé 30 jours à la glacière; la période d'incubation a été de 5 jours; l'infection a duré 5 mois et demi (décroissance au bout de 3 mois).

Rappelons enfin que les Trypanosomes conservent leur pouvoir infectieux aussi bien dans les sérum agglutinants, spécifiques ou neutres, que dans l'eau physiologique.

Symptômes morbides chez les rats infectés. — Tout le monde s'accorde à reconnaître que l'infection à Trypanosomes du rat, malgré son intensité, n'occasionne guère des symptômes morbides. D'après Rabinowitsch et Kempner, il n'y a pas de fièvre. L'abattement ne se manifeste que dans les 24 heures qui suivent l'injection. Dans un lot de jeunes rats où l'infection a été particulièrement intense (durant plusieurs jours, 3 Trypanosomes pour 1 hématie), il y a eu arrêt d'augmentation de poids et même baisse pendant la première semaine (des rats du même lot, immunisés passivement, continuaient à augmenter); mais tout est bientôt rentré dans l'ordre.

A l'autopsie, nous avons noté, comme nos prédecesseurs, l'hypertrophie de la rate. Lingard a d'ailleurs donné des chiffres précis : le poids est doublé en moyenne.

En résumé, les rats supportent parfaitement l'infection.

Infection des cobayes. — Dans leur mémoire sur le Nagana, Kanthack, Durham et Blandford¹ déclarent que le Trypanosome des rats se rencontre, en petite quantité, du 5^e au 7^e jour

1. *Proceedings of the R. Society*, t. LXIV, 1898, et *Hygienische Rundschau*, 1898, n° 24.

après l'inoculation, dans le sang des cobayes. Mais, pour pouvoir affirmer qu'il y a réellement infection, il fallait observer une multiplication du parasite dans le corps du cobaye. Nous l'avons notée dans la cavité péritonale du 2^e au 5^e jour après l'inoculation⁴; mais elle se présente rarement dans le sang et c'est sans doute ce qui explique que l'infection n'est jamais de longue durée.

Nous renvoyons au chapitre III pour les changements morphologiques que *Tryp. Lewisi* éprouve dans l'organisme du cobaye. Les parasites apparaissent dans le sang dans les 24 premières heures qui suivent l'inoculation; ils s'y maintiennent de 5 à 7 jours, avec leur grain réfringent postérieur, augmentent d'abord de nombre, jusqu'à atteindre 1/20 ou 1/50 des hématies, puis deviennent plus rares et enfin disparaissent. La disparition des nombreux parasites du péritoine, comprenant en majorité des formes de multiplication, précède généralement de 24 heures celle des Trypanosomes du sang; elle est assez brusque et elle nous a paru coïncider avec un afflux leucocytaire. L'exsudat péritonéal devient plus abondant. Nous avons vu, dans ces conditions, des Trypanosomes en train d'être englobés par des phagocytes. Le Trypanosome est dans l'axe d'une sorte de cratère très aigu formé par les prolongements du leucocyte; la partie de son corps, encore libre, montre une très grande mobilité.

Dans les préparations colorées, nous avons observé, avec la plus grande netteté, toutes les phases de la digestion des Trypanosomes par les mononucléaires du cobaye, les seuls leucocytes qui paraissent les englober. Les figures 10-12 de la planche XI donnent une idée de ce processus. Le Trypanosome est d'abord ramassé en boule dans une vacuole; son protoplasme, son noyau et son centrosome sont parfaitement intacts; seul, le flagelle se colore moins bien (fig. 10). Puis, la dissolution du protoplasme commence, le noyau et le centrosome étant encore très reconnaissables (fig. 11). Ce doit être ensuite le tour du centrosome, car on rencontre fréquemment des leucocytes tels que celui de la figure 12 qui ne renferment qu'un noyau de

4. Toutes nos injections ont été faites dans le péritoine. Elles ont porté sur des cobayes de 100 à 400 grammes. Nous inoculions au moins 1 c.c. de sang riche en Trypanosomes. Dans ces conditions, on a d'assez nombreux échecs; mais plus de la moitié des cobayes montrent l'infection que nous allons décrire.

Trypanosome. L'aspect de ce noyau prouve qu'il est en voie de digestion : on n'y distingue que des grains de chromatine ; le suc nucléaire a disparu sans doute par suite de la destruction de la membrane. La destruction des Trypanosomes chez le cobaye s'accomplice donc par le processus phagocytaire : les Trypanosomes, englobés vivants et très mobiles, sont digérés par les mononucléaires du cobaye.

VI. — IMMUNITÉ ACTIVE. — SON MÉCANISME.

Dans le court passage de leur mémoire qui établit les caractères différentiels de *Trypanosoma Lewisi* (qu'ils appellent *Tr. sanguinis*) et du parasite du Nagana, Kanthack, Durham et Blandford déclarent que des rats qui ont eu une première infection sont réfractaires à une seconde inoculation. C'est donc à ces savants qu'il faut rapporter le mérite d'avoir établi l'existence d'une immunité active vis-à-vis d'un Trypanosome. Mais ce sont Rabinowitsch et Kempner qui ont attiré l'attention sur ce fait et mis en évidence son importance. Jamais, disent-ils, un rat qui est débarrassé d'une première infection n'en contracte une nouvelle, quelle que soit la dose de sang à Trypanosomes inoculée dans le péritoine. Nous pouvons confirmer cette règle qui pourtant souffre quelques exceptions.

Ainsi, sur une trentaine de rats que nous avons suivis avec soin à cet égard, deux seulement ont montré une nouvelle infection à la suite d'une deuxième inoculation de sang à Trypanosomes. Peut-être conviendrait-il d'ajouter à ces deux rats celui qui n'a présenté aucune infection à la suite d'une première inoculation, et une assez intense, d'au moins 2 mois 1/2, à une seconde inoculation. Enfin, un de nos rats qui avait montré une infection très intense de 3 mois 1/2 à une 1^{re} inoculation (sang accompagné de 1/2 c.c. de sérum spécifique peu actif), a encore montré, à une 2^e inoculation, une infection sanguine légère de 20 jours environ et, à une 4^e, une infection assez intense. En revanche, nous avons déjà, dans le chapitre précédent, signalé deux rats qui, à la 1^{re} inoculation comme aux suivantes, se sont montrés complètement réfractaires.

Tous ces faits exceptionnels n'empêchent pas la généralité de la loi posée par Rabinowitsch et Kempner. Une première infection, fût-elle de deux jours seulement et caractérisée par la présence de très rares Trypanosomes dans le sang, confère aux rats l'immunité active.

Les rats issus de femelles immunisées ont-ils l'immunité? — Une femelle immunisée a eu 2 portées successives : l'unique survivant de la 1^{re} portée a résisté à toutes les inoculations ; en revanche, les 8 rats de la seconde portée se sont montrés aussi sensibles que des rats neufs. Tous les petits de deux autres femelles se sont montrés sensibles. Enfin, de deux petits d'une 4^e femelle immune, l'un a résisté à une 1^{re} inoculation, mais a pris, à la seconde, une infection très intense ; l'autre a été sensible à la 1^{re} inoculation. Ces quelques faits indiquent que l'immunisation par voie placentaire et par lactation est exceptionnelle, si elle existe réellement.

Nous avons constaté également que la substance agglutinante ne traverse pas le filtre placentaire.

L'immunité du cobaye, après une 1^{re} infection, ne paraît pas s'acquérir aussi facilement que celle du rat, ni, en tous cas, être aussi solide. Ainsi, sur 4 cobayes expérimentés, 2 ont supporté les inoculations, autres que la première, sans montrer à nouveau des Trypanosomes dans le sang ; mais deux autres ont eu une nouvelle infection à la 3^e inoculation. Ces observations sont trop peu nombreuses pour qu'il soit possible de conclure.

MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ ACTIVE DES RATS. — Que deviennent les Trypanosomes injectés dans la cavité abdominale d'un rat immun? Nous nous sommes posé cette question dont nos prédecesseurs ne paraissent pas s'être préoccupés. Nous avons d'abord constaté que les Trypanosomes n'apparaissent que très exceptionnellement dans le système circulatoire et que, dans ces cas, leur présence y est tout à fait passagère et qu'ils y sont en très petit nombre. *La destruction des Trypanosomes a donc lieu dans la cavité péritonéale même.*

Le temps au bout duquel tous ces flagellés ont disparu est variable. Chez les gros rats qui ont déjà reçu plusieurs inoculations, il suffit souvent de une heure et même moins pour la destruction complète de tous les Trypanosomes contenus dans 1/2 ou 1 c. c. d'un sang très riche (1 Trypanosome pour 1 à 3 hématies).

Quel est le mécanisme de cette destruction? Pour nous en rendre compte, nous retirions de la cavité péritonéale des rats, au bout de temps variables, de l'exsudat que nous examinions en gouttes pendantes. Jusqu'à disparition complète, on constate

que tous les Trypanosomes de la cavité péritonéale gardent leur mobilité, qu'ils conservent leur forme et restent bien isolés. Pour faire cette dernière observation, il est indispensable d'observer la goutte aussitôt après qu'elle a été retirée du péricitone; car, en quelques minutes, les Trypanosomes forment de petits amas; les humeurs des rats immunisés sont en effet aggrégantes mais, dans les conditions de notre observation, le phénomène est toujours de peu d'intensité (voir chapitre IV).

L'exsudat retiré contient un grand nombre de leucocytes, environ deux tiers de polynucléaires et un tiers de mononucléaires. On est frappé de ce fait que les Trypanosomes sont souvent comme collés par une de leurs extrémités à un leucocyte. Enfin, on observe fréquemment des Trypanosomes en train d'être englobés par les leucocytes : le leucocyte envoie des prolongements qui forment une sorte de tronc de cône très aigu, dans l'axe duquel se trouve une partie plus ou moins grande, soit antérieure, soit postérieure, du Trypanosome. La partie restée libre a conservé toute sa mobilité et, quand c'est le flagelle, il s'agit très vivement. *Les leucocytes des rats immunisés* (nous avons fait souvent la contre-épreuve avec des rats neufs) englobent donc les Trypanosomes ayant tous leurs caractères de vitalité.

Ces observations, faites au moment même où l'on retire l'exsudat du péricitone, peuvent être poursuivies sur la goutte pendante. Les englobements de Trypanosomes se continuent en effet sans interruption si l'on met la préparation sur la platine chauffante du microscope, et, après 1-2 heures d'arrêt, si l'on observe à 15-20°. A 37°, on se rend compte de la rapidité avec laquelle se fait l'englobement d'un Trypanosome; il y a d'abord simple adhérence du parasite au globule et il arrive alors que très souvent le Trypanosome se dégage. Mais d'autres fois, c'est le leucocyte qui a le dessus; il envoie des sortes de tentacules tout autour du Trypanosome; celui-ci est alors ramené en quelques minutes vers la masse centrale du leucocyte et on le voit rapidement se déformer et se confondre dans la masse plus ou moins granuleuse du leucocyte où il est bientôt impossible de le distinguer (voir fig. 17, A-C, qui représente les étapes successives, à intervalles de 5 minutes, de l'englobement d'un Trypanosome par un leucocyte). — A 15-20°, les englobe-

ments se font de même, mais avec une beaucoup plus grande lenteur (les stades 17 A sont très fréquents; le cône peut être beaucoup plus allongé).

En somme, la destruction des Trypanosomes par les leucocytes est le seul mode que nous ayons observé dans les cas d'immunité active et nous n'hésitons pas à considérer ce processus comme le seul existant.

Nous avons voulu nous rendre compte, par des préparations colorées, de la façon dont s'effectue la digestion des Trypanosomes par les leucocytes. Nous n'avons pas été aussi heureux

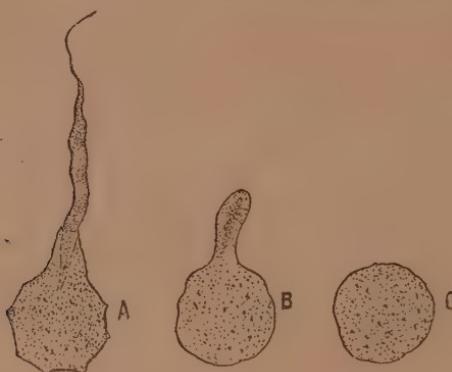


Fig. 47. — La figure représente plusieurs phases de l'englobement d'un Trypanosome par un leucocyte dans l'exsudat péritonéal d'un rat, 4 heures après l'injection du sang à Trypanosomes dans le péritoine de ce rat. — A. La partie non englobée du Trypanosome est animée encore de mouvements très nets quoique ralents; la partie déjà englobée est peu distincte. — B. Mêmes éléments dessinés au bout de 5 minutes; le Trypanosome ne forme plus qu'un prolongement dont la nature serait facile à méconnaître si on n'avait pas saisi toutes les phases de l'englobement. — C. Mêmes éléments dessinés encore au bout de 5 minutes; le Trypanosome a été englobé complètement et le leucocyte a repris son aspect normal.

qu'avec les exsudats péritonéaux des cobayes. Il est probable que la destruction des Trypanosomes se fait très vite¹; déjà, les observations d'englobement *in vitro* prouvent que le parasite est de suite déformé; sans doute, son protoplasme est rapide-

1. En ajoutant du bleu de méthylène ou mieux du rouge neutre à une goutte pendante, on est frappé du nombre considérable des inclusions leucocytaire qui se colorent; mais ce n'est que deux ou trois fois seulement que nous avons vu des Trypanosomes englobés et encore reconnaissables par leur forme se colorer dans les leucocytes par le rouge neutre.

ment digéré et il ne reste plus que le noyau et le centrosome. On observe en effet fréquemment dans les leucocytes, particulièrement dans les mononucléaires, des boules de chromatine, souvent une grosse associée à une petite, que nous interprétons avec réserves comme provenant d'un Trypanosome englobé.

Les meilleurs résultats que nous ayons obtenus l'ont été en réalisant de la phagocytose *in vitro*, en mélangeant en goutte pendante de l'exsudat (obtenu en injectant 24 heures avant, dans le péritoine, du bouillon frais) d'un rat immun et du sang à Trypanosomes; en faisant des frottis quelques heures plus tard nous avons observé ainsi quelques débuts d'englobement (voir Pl. XI, fig. 13-14).

La façon dont les Trypanosomes sont englobés par les leucocytes du rat rappelle surtout les processus décrits et figurés par Sawtchenko pour l'incorporation des Spirilles de la fièvre récurrente par les leucocytes du cobaye¹. Mais, dans ce cas, on retrouve encore longtemps les Spirilles englobés dans de larges vacuoles où la coloration *intra vitam* par le bleu de méthylène les met facilement en évidence. — Ces particularités sont bien en rapport avec les différences de constitution des Trypanosomes et des Spirilles.

VIII. — IMMUNITÉ PASSIVE. — VALEUR PRÉVENTIVE DU SÉRUM DES RATS IMMUNISÉS. — ESSAIS DE TRAITEMENT. — MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ PASSIVE. — SUITES D'IMMUNITÉ PASSIVE.

C'est à Rabinowitsch et Kempner que l'on doit cette importante découverte que le sérum des rats qui ont reçu plusieurs injections de sang à Trypanosomes est doué de propriétés préventives. Dans leurs expériences, 1 c. c. de sérum injecté à des rats soit en même temps que du sang à Trypanosomés, soit 24 heures avant, soit 24 heures après, les préservait de toute infection, alors que les témoins prenaient une infection de courte durée (4 à 7 jours). Les sérums de rat neuf et de chien se sont montrés dépourvus de toute propriété préventive. Il en a été de même des émulsions de cerveau, de rate, de moelle des os et de foie des rats dont le sérum était préventif. Cette dernière constatation est intéressante; elle crée une forte

1: SAWTCHENKO, *Archives russes de pathologie et de bactériologie* (Podwys-sotzky), 1900.

présomption en faveur de l'origine leucocytaire de la substance préventive; nous avons vu, en effet, que les Trypanosomes sont détruits et digérés par les leucocytes.

Quant au mécanisme de cette immunité passive, Rabinowitsch et Kempner émettent l'hypothèse tout à fait invraisemblable d'une action antitoxique. *Trypanosoma Lewisi*, si peu pathogène, est certainement le dernier parasite pour lequel on songerait à une action toxique!

Nous avons repris les expériences de Rabinowitsch et Kempner et nous avons reconnu, comme eux, les propriétés préventives du sérum des rats immunisés contre le *Trypanosoma Lewisi*. Toutes nos expériences ont été faites avec de jeunes rats de 30 à 125 grammes. Avec ces rats, on a toujours des infections longues et intenses avec 3 périodes bien nettes pour l'évolution du parasite. On peut donc, avec la plus grande facilité, reconnaître la perturbation que jette dans cette évolution parasitaire l'introduction d'un sérum, alors même qu'il n'arrête pas toute infection.

Dans nos expériences de contrôle, nous avons employé, à la place du sérum spécifique, du sérum de divers animaux, rats neufs, mouton, lapin, cheval, poule. Dans la plupart de nos expériences, les sérums étaient mélangés, dans la seringue même, avec le sang à Trypanosomes, et le tout était injecté immédiatement dans la cavité péritonéale des rats. Employés à des doses variant de 0 c. c. 5 à 1 c. c. 3, les divers sérums neufs n'ont amené aucun changement dans la marche de l'infection.

Quant aux sérums spécifiques, leur action a été variable avec le rat dont ils provenaient, et surtout avec le nombre d'injections qu'avait reçues ce rat. Généralement, le sérum de rats, ayant reçu au moins 5 inoculations de sang à Trypanosomes, s'est montré actif à la dose de 1/2 c. c. (injecté en mélange avec les Trypanosomes dans la cavité péritonéale); dans ces conditions, les Trypanosomes n'apparaissaient pas dans la circulation et ils disparaissaient du péritoine au bout d'un temps variable de quelques heures à 48 heures, sans qu'il s'y produisît le moindre développement. Notre sérum le plus actif provenait de rats dont l'un (rat R) avait reçu 13 inoculations; l'autre (rat R'), 10 inoculations. Le tableau suivant donne les résultats obtenus avec ces sérums :

N° des rats.	Poids	DÉTAIL des injections faites le 3 fév.	Examen du sang.	EXAMEN du contenu péritonéal.
1	48 ^{er}	Péritoine : 0 ^{eme} ,5 sérum rat R + 0 ^{eme} ,2 sang dilué à trypanosomes.	Toujours négatif.	Plus de trypanosomes 3 h. 1/2 après l'injection.
2	57	Péritoine : 0,25 sérum rat R + 0,2 sang dilué à trypanosomes.	idem	3 h. 3/4 après l'injection, vu seulement 1 trypanosome libre et 1 en voie d'englobement par 1 leucocyte.
3	40	Péritoine : 0,10 sérum rat R + 0,2 sang dilué à trypanosomes.	Les 4, 6 et 7 février, trypanosomes extrêmement rares.	4 h. après l'injection, trypanosomes encore assez nombreux, bien mobiles; après 24 h., rares.
4	53	Péritoine : 0,35 sérum rat R chauffé 33° à 58°,5 + 0,2 sang dilué à trypanosomes.	Le 9 février trypanosomes non rares.	4 h. après l'injection, vu seulement 1 trypanosome.
5	50	Péritoine : 0,55 sérum rat R chauffé 30° à 63°,5 + 0,2 sang dilué à trypanosomes.	Le 6 février vu 1 trypanosome.	3 h. 50 après l'injection, trypanosomes assez rares, isolés, bien mobiles. Plus rien 24 h. après.
6	50	Péritoine : 0,50 sérum rat R' + 0,20 sang à trypanosomes.	Toujours négatif.	4 h. après l'inoculation, trypanosomes rares : vu un englobement.
7	52	Péritoine : 0,2 sang à trypanosomes; en même temps, sous la peau, 0,50 sérum rat R'.	Du 5 au 9 février, trypanosomes non rares.	4 h. 20 après l'inoculation, trypanosomes très nombreux, bien mobiles; 4 et 5 février, trypanosomes nombreux.
8	62	Péritoine : 0,30 sérum rat R' + 0,20 sang à trypanosomes.	Toujours négatif.	4 h. 1/2 après l'injection, trypanosomes assez nombreux, il en persiste encore quelques-uns 24 h. après.
9	59	Péritoine : 0,20 sang à trypanosomes. (Témoin.)	Infection moins de 5 h. après l'inoculation devient rapidement très intense.	Culture abondante.
10	44	Péritoine : 0,20 sang à trypanosomes. (Témoin.)	idem	idem
11	57	Péritoine : 0,20 sang à trypanosomes; 24 h. après, sous la peau, 1 c. c. sérum mélangé rats R et R'.	Trypanosomes non rares le 4, rares le 5, extrêmement rares le 6, puis 0.	Trypanosomes très nombreux le 4; peu nombreux le 5.

Nous avons donc eu un sérum actif, *en mélange*, à la dose de 0 c. c. 1; mais c'était évidemment la dose minima.

Les faits de notre tableau, corroborés par plusieurs autres expériences, comportent plusieurs conclusions que nous allons examiner.

Action de la température sur les propriétés préventives du sérum. — Chauffé 1/2 heure ou 3/4 d'heure à 58° et même à 64°, le sérum conserve encore des propriétés préventives (rats 4 et 5). Mais on remarquera que nous avons donné d'assez fortes doses et que la destruction des Trypanosomes a été moins rapide que dans le cas du rat 2. Le sérum a donc perdu, aux températures de 58°-64°, une partie de son action. D'autres expériences nous permettent de confirmer cette donnée et de la préciser. Ainsi, nous pouvons évaluer à la moitié environ de ce qu'elle était avant, la force d'un sérum chauffé à 55-58°; à 64°, cette force est encore nettement moindre¹.

Action du sérum non mélangé au virus. — Le sérum agit quand il est injecté *sous la peau*, en même temps que les Trypanosomes sont injectés dans le *péritoine* (rat 7); mais, dans ces conditions, malgré la dose employée, le résultat est lent et on n'évite pas une légère infection. — Injecté 24 heures après les Trypanosomes (rat 11), le sérum a réussi à enrayer une infection commençante; il est vrai que nous l'avons employé à dose massive (1 c. c.); la disparition des Trypanosomes n'a pas non plus été immédiate. — Des expériences antérieures nous avaient montré, qu'inoculé 24 heures *avant* les Trypanosomes, le sérum empêche l'infection, mais à condition encore d'employer des doses un peu plus fortes qu'en mélange.

Dans des expériences postérieures, nous avons employé le sérum en injection *intraperitoneale* au lieu de *sous-cutanée*, et à la dose de 1 c. c., 24 et 48 heures *après* le début de l'infection; dans tous ces cas, en 24 heures, l'infection sanguine était enrappée; quelquefois pourtant, il y avait une poussée ultérieure très passagère.

On pourrait considérer ces derniers résultats comme des guérisons plutôt que comme des préventions; car, au bout de 48 heures surtout, les Trypanosomes étaient déjà nombreux

1. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, le sérum, avant d'être chauffé à 64°, doit être dilué dans son volume d'eau physiologique.

dans le sang et en voie de multiplication abondante dans le péritoine.

ESSAIS DE TRAITEMENT. — Nous avons été moins heureux en essayant d'enrayer une infection à la période d'état. Rabino-witsch et Kempner ont dû échouer également, si l'on en juge par la phrase suivante (*op. cit.*, p. 282). « Dans le corps même des rats dont le sang contenait de nombreux parasites, le sérum injecté intrapéritonéalement dans le cours d'une semaine, n'a montré aucune propriété antiparasitaire. »

Nous avons agi sur des rats au 8^e jour après l'infection (début de la 3^e période), au 13^e, au 34^e, au 51^e jours; tous avaient de nombreux Trypanosomes dans le sang; chez aucun, l'infection n'était dans la période de décroissance.

Certains rats ont reçu, en plusieurs injections, jusqu'à 4 c. c. de sérum de rats immunisés. Des témoins recevaient les mêmes doses de sérum de rats neufs.

Les résultats obtenus ont été très inconstants. Chez certains, le nombre des Trypanosomes diminuait dans le sang immédiatement après l'injection et les parasites disparaissaient en quelques jours; chez d'autres, il y avait une baisse *passagère* des Trypanosomes, suivant l'injection; entre lame et lamelle, les flagellés avaient des mouvements ralentis, quelquefois ils montraient une tendance à l'agglutination; mais ces phénomènes ne persistaient pas.

Enfin, chez la moitié au moins des rats traités, nous n'avons noté aucune action antiparasitaire, malgré l'injection de 4 c. c. de sérum de rats immunisés, dans quelques cas. L'action sur les témoins a toujours été nulle.

Il y a donc, dans certains cas, une légère action du sérum; mais nous n'avons pas pu agir à coup sûr, ni rapidement.

MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ PASSIVE. — Nous avons vu, dans le chapitre IV, que *in vitro* le sérum spécifique est toujours agglutinant, rarement paralysant, jamais microbicide. En règle générale, il y a parallélisme entre les pouvoirs agglutinant et préventif des sérum; nos sérum paralysants se sont montrés les plus actifs préventivement.

Ces propriétés agglutinantes et paralysantes jouent-elles un

rôle dans l'immunité passive? On peut déjà en douter *a priori* si l'on remarque que :

1^o La chaleur agit très inégalement sur les pouvoirs agglutinant et préventif; le premier n'est sérieusement touché qu'au delà de 58°, mais il a complètement disparu à 64°; le second, quoique déjà réduit au moins de moitié à 55°, persiste encore en partie à 64°;

2^o Des sérum neufs très agglutinants (poule, cheval) ne sont nullement anti-infectieux, alors que le sérum spécifique chauffé à 64°, c'est-à-dire dépourvu de toutes propriétés agglutinantes, est encore préventif.

Mais l'étude détaillée de ce qui se passe dans la cavité péritonéale va prouver que l'immunité passive n'est nullement d'ordre humorale, mais encore d'ordre cellulaire. En retirant de l'exsudat à des heures variées depuis le moment de l'injection jusqu'à celui de la disparition complète des Trypanosomes, l'examinant partie en gouttes pendantes, partie en préparations fixées et colorées, on constate les faits suivants.

Les Trypanosomes dans la cavité péritonéale restent toujours très mobiles; jamais on n'en voit d'immobiles, ni d'altérés d'une façon quelconque. Le seul phénomène que l'on observe en goutte pendante est une légère agglutination des Trypanosomes, ce qui n'a rien d'étonnant si l'on songe que le sérum injecté est très agglutinant. Mais cette agglutination, que l'on voit se produire sous le microscope, n'est pas comparable à celle que nous avons décrite dans notre chapitre IV, et de plus elle est toujours incomplète. Enfin, elle existe aussi développée dans les exsudats de rats injectés avec certains sérum neufs, nullement préventifs, tel que le sérum de mouton. *L'agglutination ne saurait jouer un rôle quelque peu important dans la défense de l'organisme contre les Trypanosomes.*

Il n'est pas rare de constater, au moment où l'on commence à examiner la goutte pendante, que la plupart des Trypanosomes, très mobiles, sont comme accolés aux leucocytes, et que quelques-uns sont en voie d'être englobés par les leucocytes. Et si l'on observe longtemps une goutte pendante, on peut assister à toutes les phases de l'englobement d'un parasite très mobile par un phagocyte. Les détails du processus sont identiques à ceux que nous avons décrits à propos de l'immunité active.

L'examen des préparations colorées est moins instructif ; comme dans les cas d'immunité active, la destruction des Trypanosomes doit être extrêmement rapide et l'on ne retrouve guère que des restes chromatiques (pl. XI, fig. 15), à la vérité très abondants, dans les leucocytes mononucléaires et aussi, quoique plus rarement, dans les polynucléaires de l'exsudat¹. L'immunité passive est donc encore d'ordre phagocytaire. Dans l'immunité active, comme dans l'immunité passive, il paraît y avoir *stimulation leucocytaire*.

SUITES D'IMMUNITÉ PASSIVE. — Les rats, qui ont évité l'infection à Trypanosomes, grâce au sérum préventif, ont-ils acquis une immunité solide ? Nous avons inoculé tous nos rats à immunité passive, dans la seconde semaine qui a suivi l'expérience, avec du sang à Trypanosomes. La moitié environ se sont montrés réfractaires ; les autres ont contracté une infection, mais elle a toujours été courte et légère.

De plus, nous avons noté, chez la plupart de ces rats, que les Trypanosomes du sang, au cours de l'infection, montrent, entre lame et lamelle, ou en goutte pendante, une tendance manifeste à l'agglutination ; quelquefois, il se forme des rosaces d'un petit nombre d'éléments. Nous en avons déjà parlé ailleurs. La substance agglutinante inoculée persiste donc plus longtemps dans les humeurs du rat que la substance préventive.

Ce phénomène n'est pas absolument spécial aux rats ayant eu l'immunité passive ; nous l'avons observé, quoique très rarement, chez des rats n'ayant jamais reçu de sérum.

Notons encore que les rats qui se sont montrés réfractaires à une deuxième inoculation sont presque tous ceux qui, à l'inoculation, sang à Trypanosomes + sérum préventif, avaient contracté une légère infection.

1. Deux tiers de polynucléaires, un tiers de mononucléaires.

EXPLICATION DES PLANCHES

Toutes les figures proviennent de préparations (sang ou exsudat péritonéal) colorées par le procédé bleu Borrel-éosine tannin.

PLANCHE XI

Fig. 1-9. — Evolution de *Trypanosoma Lewisi* chez le rat. G = 2,000 diamètres environ.

Fig. 1. — Forme adulte mince.

Fig. 2. — Forme renflée se préparant à la division.

Fig. 3. — Division du centrosome et de la base du flagelle.

Fig. 4. — La division en deux est presque terminée; l'un des deux individus porte le flagelle ancien, l'autre un court flagelle de nouvelle formation.

Fig. 5. — Stade de multiplication avec 4 éléments, 3 ont des flagelles nouveaux, le 4^e porte le flagelle ancien.

Fig. 6. — Stade de multiplication du noyau et du centrosome, non encore accompagné de division du protoplasme; l'un des flagelles est plus gros que les autres.

Fig. 7. — Rosace complète de 10 petits éléments sur le point de se séparer.

Fig. 8. — Jeune forme libre.

Fig. 9. — Jeune forme en train de se dédoubler.

Fig. 10-13. — Englobement et digestion des Trypanosomes par les phagocytes — Gr. = 1,400 diamètres environ.

Fig. 10-12. — Trois phases de la digestion des Trypanosomes par les leucocytes mononucléaires de l'exsudat péritonéal du cobaye; deux de ces leucocytes ont également englobé des hématies de rat.

Fig. 13-14. — Deux phases de l'englobement de Trypanosomes par des leucocytes de l'exsudat péritonéal d'un rat ayant l'immunité active.

Fig. 15. — Boules chromatiques dans un leucocyte de rat : immunité passive.

PLANCHE XII

Fig. 1. — Union de deux Trypanosomes.

Fig. 2. — Agglomération primaire en rosace.

Fig. 3. — Agglomération secondaire.

ÉTUDES SUR LA PESTE BOVINE

PAR MM.

M. NICOLLE

Directeur de l'Institut Impérial
de bactériologie de Constantinople.

ADIL-BEY

Chef de Laboratoire.

DEUXIÈME MÉMOIRE

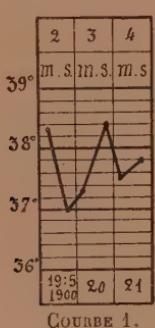
Nous nous proposons, dans le présent travail, de compléter certains chapitres de notre premier mémoire et d'aborder quelques questions nouvelles. Nous suivrons le même ordre que précédemment.

SYMPTOMES ET LÉSIONS DE LA MALADIE INOCULÉE

Il a été fait exclusivement usage, dans les expériences qui vont être relatées, d'un virus de passage entretenu sans interruption depuis 1897. Ce virus, tout en conservant son caractère de fixité, tue cependant les animaux plus rapidement qu'autrefois, au moins dans la majorité des cas. Les signes et lésions n'ont pas varié. Mentionnons, en passant, la réaction de la caillette, à laquelle certains auteurs attachent quelque importance. Nous l'avons recherchée systématiquement à l'autopsie, et nous avons pu nous assurer que la muqueuse, encore acide au début de la formation des érosions, devient ensuite neutre, puis alcaline.

Signalons, à propos des types cliniques, les formes incomplètes (rares) et la forme chez les jeunes animaux. Celle-ci (dont il a été fait mention dans le travail du Dr Réfik-bey et du vétérinaire Réfik-bey) se caractérise par l'absence de signes caractéristiques, par la faiblesse des membres (postérieurs principalement) pouvant aller jusqu'à la parésie, par sa courte durée et sa terminaison brusquement mortelle. C'est la seule forme de typhus contagieux qui soit apyrétique. A l'autopsie, on ne rencontre guère, comme lésion significative, que l'aspect cireux du foie. Voici un exemple très net de la forme chez les jeunes animaux (courbe n° 1). Tous les cas sont d'ailleurs pour ainsi dire calqués les uns sur les autres.

Il ne nous a été donné qu'une seule fois d'infecter une vache pleine et de rechercher si le fœtus était virulent. Il s'agissait d'un animal mort le neuvième jour, avec les signes et lésions classiques. L'utérus contenait un fœtus de 0^m,23 de long. 1 gramme de pulpe cérébrale de celui-ci, recueillie aseptiquement (après



Animal 79-11. Race mixte (Crimée 9° Anatolie), 4 à 5 mois. Reçoit, le 18. V. 1900, 3 c.c. de virus. Meurt dans la nuit du 4^e au 5^e jour, sans autres signes que de la faiblesse du train porté. À l'autopsie, congestion de la caillette foie ciréux. Le sang est virulent (il infecte l'animal 79-52).

cautérisation des téguments du crâne), puis émulsionnée dans 7 c.c. de bouillon, a été inoculé à un veau de race noire (Anatolie), âgé de 10 mois. Il ne s'en est suivi aucune réaction, mais le veau, éprouvé après 9 jours, a résisté à l'injection sous-cutanée de 5 c.c. de virus¹. On peut donc conclure que les germes du typhus contagieux avaient passé au fœtus, mais en faible proportion. Notons que le liquide amniotique, inoculé à la dose de 5 c.c., n'a produit ni infection ni immunité chez un autre sujet.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Sensibilité des diverses races. — Nous avons dit ailleurs que l'inoculation, toujours mortelle pour les races perfectionnées et les races noires, ne l'est pas fatalement pour les animaux des steppes. Ceux-ci peuvent résister au virus de passage lui-même, lorsqu'on l'injecte par la voie sous-cutanée, intra-veineuse ou intratrachéale, mais ils semblent succomber fatalement quand on emploie la voie intracérébrale. Les expériences sur les moutons et les chèvres, relatées plus loin, montrent bien aussi que ce dernier mode d'infection doit être considéré comme plus sévère que les autres.

1. Bien qu'ayant toujours opéré sur des races qui succombent régulièrement à l'inoculation virulente, nous n'avons jamais omis de faire des témoins. Ceci dit pour toutes les expériences relatées dans ce mémoire.

Il existe en réalité une différence de sensibilité entre les races perfectionnées et les bovidés d'Anatolie (races noires). Cette différence apparaît nettement quand on fait des inoculations avec le sérum de passage, et quand on pratique la sérothérapie préventive ou curative. Lors de l'infection expérimentale, la durée de l'incubation est presque toujours plus courte de 24 heures chez les sujets sélectionnés, et la mort survient ordinairement un ou deux jours plus tôt. D'autre part, tandis que 5 c.c. de sérum suffiront pour vacciner un animal noir d'un an (par le procédé Kolle et Turner), il faudra au moins 10 c.c. pour obtenir le même résultat s'il s'agit, par exemple, d'un veau de Crimée. Enfin, la guérison par le sérum est infiniment plus aisée à réaliser dans le cas des animaux d'Anatolie que dans le cas des individus perfectionnés.

Nous avons inoculé, sans succès, un buffle d'un an et demi. Le buffle doit donc être considéré comme peu sensible.

Produits virulents. — A titre de documents, nous indiquerons les faits suivants. L'humeur aqueuse est toujours active sous le volume de 1 c.c., inconstamment sous celui de 1/2 à 1/4 de c.c. Le liquide céphalo-rachidien se comporte de même. L'urine, inoculée deux fois à la dose de 5 c. c. a tué les animaux. Enfin, le liquide de lavage péritonéal (dont il sera parlé ultérieurement) peut tuer au 1/4 de c.c., mais se montre généralement moins riche en germes que l'humeur aqueuse ou la sérosité rachidienne,

Modes divers d'inoculation. — Au sujet de l'inoculation intraveineuse, nous rappellerons ici une expérience faite par M. Kolle. Deux animaux reçoivent chacun 1 cmc. de sang dans la veine de l'oreille. Chez l'un des sujets, le virus pénètre exclusivement dans le vaisseau : il n'en résulte ni infection ni immunité ; chez l'autre, un peu de sang se répand en dehors de la veine : la mort s'ensuit. M. Kolle se demande si l'injection intraveineuse n'aurait pas pour effet la destruction des germes, au moins dans certains cas.

Nous citerons, de notre côté, les deux observations suivantes qui semblent se contredire. On fait une série de passages, dans les veines, chez des sujets de races perfectionnées. Chaque inoculation se pratique avec 1/10 c. c. de sang (dose plusieurs fois mortelle sous la peau) ; la veine choisie est la jugulaire. Le 7^e animal résiste et n'acquiert pas l'immunité. Par

contre on inocule un veau de Crimée, âgé de 1 an, avec 1 c. c. de sang virulent, dans une veine auriculaire. Séance tenante, on abat l'oreille au thermocautère : l'animal contracte la peste bovine.

Nous pensons que, lors de l'inoculation intra veineuse, le virus, dilué dans la masse sanguine, produit des effets différents selon sa richesse en germes. L'influence de la dilution d'une dose sûrement mortelle ressort en effet de ce qui va suivre.

Influence de la dilution du virus. — Voici trois expériences, très démonstratives. 1/60 de c. c. de sang, dilué dans 1, 5 c. c. d'eau physiologique, tue l'animal qui le reçoit (sous la peau). 1/60 de c. c. dilué dans 500 c. c. d'eau physiologique se montre inactif. Si une quantité quasi égale de germes, diluée dans des proportions variables de liquide, engendre des effets aussi différents, une quantité variable de germes, diluée dans la masse sanguine, devra amener aussi des résultats fort divers. C'est ainsi que nous expliquons l'expérience de M. Kolle et les nôtres.

Nous avions pensé à utiliser le principe de la dilution d'une dose sûrement mortelle pour vacciner les animaux ; mais, en raison précisément de la proportion variable des germes, on ne réussit que dans certains cas.

Quoi qu'il en soit, l'influence de la dilution est importante à retenir.

RÉSISTANCE DU VIRUS

Résistance in vitro. — Nous signalerons tout d'abord quelques faits, utilisables pour ceux qui étudient la peste bovine. Une nouvelle expérience, dans laquelle du sang défibriné a été incorporé (*à l'*) à de la gélatine, nous a montré qu'après 2 mois (*à la glacière*) le mélange ne tuait plus sous le volume de 5, 5 c. c.

— Dans une autre recherche, nous avons constaté que le liquide céphalo-rachidien, maintenu 20 jours dans la glacière, était devenu inoffensif à la dose de 20 c. c. — Enfin, 70 c. c. d'une émulsion de rate, gardés 8 mois à la glacière dans l'eau salée (10 0/0) stérile, et n'ayant subi aucune altération, n'ont pas infecté l'animal qui les a reçus.

Le virus n'est pas très sensible aux acides, comme l'a mon-

tré jadis une expérience faite avec le bichlorhydrate de quinine. Il n'est pas non plus très sensible aux alcalis, ainsi qu'on va le voir. 1 gramme de ganglions mésentériques est broyé dans 8 c. c. de carbonate de soude à 0,5 0/0. Après 3 jours, à la température ordinaire, on inocule 1/2 c. c. du liquide clair surmontant le dépôt : le sujet inoculé succombe.

Par contre, la dessication détruit aisément la virulence. Si l'on broie des ganglions mésentériques et qu'on dessèche la masse dans le vide, 0^{gr},01 inoculé après 2 jours sous forme d'émulsion se montre totalement inactif.

L'influence de la température et de l'aération a été étudiée par nous à maintes reprises. Voici à ce propos quelques données intéressantes :

2 à 8 c.c. de liquide céphalo-rachidien sont maintenus à 37° pendant 4 jours, en évitant l'évaporation. Au bout de ce temps, on inocule 1 c.c. à des veaux ; ceux-ci ne se trouvent ni infectés ni immunisés. Mêmes résultats avec le liquide de lavage péritonéal.

Plusieurs tubes, contenant 8 gouttes de sang, réparties dans 5 c.m.c. de sérosité rachidienne virulente, sont placés à 37°, les uns à l'air, les autres dans le vide. Après 7 jours, 1 c.c. du virus-air (bien agité) ne tue pas constamment, 1 c. c. du virus-vide ne tue jamais.

Plusieurs tubes, contenant 10 gouttes de sang réparties dans 5 c.c. de bouillon-Martin-sérum (sérum de cheval), sont mis à 37°, les uns à l'air, les autres dans le vide. Le virus-air, après 3 jours, tue régulièrement à la dose de 1 c. c. ; après 5 jours il produit, à la même dose, une affection curable. Le virus-vide, après 3 jours, immunise les animaux (sans les rendre malades) à la dose de 1 c. c. ; après 5 jours, il est devenu inactif (à la même dose).

On voit donc que la conservation est plus longue pour le sang que pour le liquide de lavage péritonéal ou la sérosité rachidienne, ce qui tient évidemment à une différence dans le nombre des germes. Elle est plus longue à l'air que dans le vide, circonstance qu'on pourrait peut-être expliquer en admettant que l'agent pathogène est très aérobie¹.

1. Nous reviendrons plus tard sur certaines expériences, qui nous avaient tout d'abord fait croire à une culture de cet agent pathogène, mais que nous sommes plutôt portés aujourd'hui à expliquer par une conservation exceptionnellement longue du virus.

Désirant comparer, au point de vue de leur action bactéricide, le sérum de divers animaux, nous avons porté dans plusieurs tubes 3 c.c. de solution physiologique, 8 gouttes de sang virulent et 1 c.c. du sérum à étudier (sérum frais). Après 5 jours à 37°, 1 c.c. de chaque mélange (bien agité) a été inoculé à des animaux. L'expérience nous a montré que les sérums de cheval et de mouton conservaient la virulence, tandis que ceux de bœuf, de chèvre et de chien la détruisaient. Nouvelle preuve de l'absence totale de rapports entre le pouvoir bactéricide des humeurs et l'état réfractaire.

Résistance in vivo chez la sanguine. — 2 sangsues sucent le sang d'un veau infecté. Après 16 jours, on les broie dans 5 c.c. de bouillon ; on passe sur mousseline et on injecte le liquide sous la peau d'un animal gris de 2 ans. Celui-ci prend la peste bovine.

Les sangsues pourraient donc être employées dans certains cas pour la conservation du virus. Il est certain que celui-ci peut demeurer actif plus de 16 jours dans leur organisme. Il suffirait donc, au besoin, d'inoculer une dose supérieure à celle dont nous avons fait usage. En tout cas, nous sommes convaincus que le sang conserve bien mieux sa virulence chez la sanguine qu'*in vitro*, à masses et à températures égales.

Chez la grenouille. — 1 c. c. de sang a été inoculé dans le sac lymphatique dorsal d'une grenouille ; 15 jours après, le sang de la grenouille s'est montré inoffensif et n'a pas vacciné.

Chez le lapin. — Le virus peut se conserver un certain temps dans le cerveau¹ lorsqu'on l'y introduit. Nous avons fait à cet égard de nombreuses recherches, dont voici le résultat :

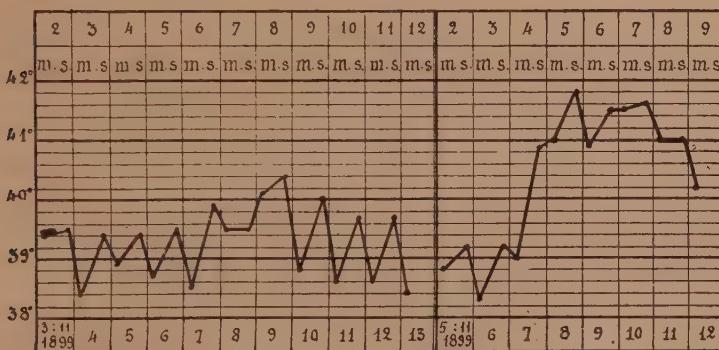
1/10^e à 1/20^e de c. c. de sang virulent tuent en un temps variable (5 à 38 jours). Les lapins succombent, intoxiqués par le poison normal du sérum des bovidés, auquel le poison pestique vient ajouter certainement son action (au moins dans le cas de mort rapide), ainsi qu'il ressort d'expériences comparatives fait avec le sang des bovidés sains. Nous avons inoculé, sans succès, aux veaux, 15 c. c. d'émulsion cérébrale épaisse d'un lapin mort en 23 jours ; 15 c. c. d'émulsion d'un autre lapin mort en 18 jours ; et 20 c. c. d'émulsion d'un troisième lapin, mort également en 18 jours.

1. Il n'a jamais été retrouvé dans le sang ni dans les viscères.

En injectant dans le cerveau du lapin 1/100^e de c. c. de sang virulent, on tue l'animal en 8 1/2 à 25 jours.

Si l'on inocule 3/10^e de c. c. de liquide céphalo-rachidien, le lapin succombe en 7 1/2 à 23 jours. Dans une expérience (la seule que nous ayons faite), 16 c. c. d'émulsion cérébrale d'un lapin mort en 7 jours 1/2 ont donné la peste bovine au veau.

Nous avons injecté, une fois, dans le cerveau du lapin, 1/10^e de c. c. de sang, pris le 7^e jour chez un mouton fébricitant (mouton inoculé lui-même, dans le cerveau, avec 1 c. c. de liquide céphalo rachidien). L'animal est mort en 19 jours. 1 c. c. d'émulsion cérébrale, inoculé à un veau, ne l'a pas rendu malade, mais l'a vacciné. (Courbes n° 2 et n° 3.)



COURBE 2.

Animal 78-11. Race d'Anatolie, un an. Inoculé, le 23. X. 1899, avec un c. c. d'émulsion épaisse du cerveau de 44.90 (lapin ayant reçu, dans le cerveau, 1/10 c. c. de sang du mouton 78.81 et ayant succombé en 19 jours). Pas de réaction. — Réinoculé le 10^e jour avec 1 c. c. de virus. Fièvre légère, comme l'indique la courbe.

COURBE 3.

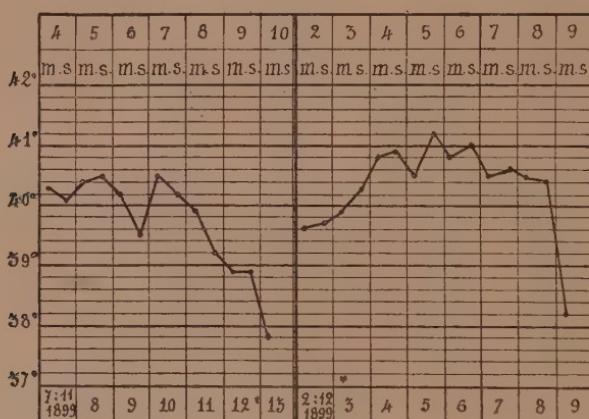
Animal 78-95. Témoin du précédent. Inoculé avec la même dose du même virus. Signes et lésions classiques. Mort le 9^e jour. (La gazelle n° 1 constitue aussi un témoin de l'animal 78-11; elle n'a été inoculée, comme 78-95, que le 4. XI.)

Enfin, nous avons injecté 1/10^e de c. c. du sang de la chèvre 78-53 (*vide infra*), recueilli à l'autopsie. Le lapin est mort en 21 1/2 jours. 9 c. c. d'émulsion cérébrale n'ont ni infecté ni immunisé un veau. La conservation du virus dans le cerveau du lapin semble donc soumise à des conditions très variables¹.

1. On notera toutefois que, *in vivo*, comme *in vitro*, les sérums du bœuf ou de la chèvre se montrent moins favorables à la conservation du virus que celui du mouton. On remarquera aussi que, *in vivo*, le liquide céphalo-rachidien est demeuré plus longtemps actif qu'*in vitro*.

Inoculations à la gazelle. — Le Dr Tahsin-bey a bien voulu nous envoyer de Tripoli d'Afrique 2 gazelles, dont nous ignorons l'espèce zoologique. Les courbes suivantes (courbes n° 4 et n° 5) démontrent la parfaite sensibilité de ces animaux, qui ont contracté la maladie type.

Inoculations intra cérébrales au mouton. — A 3 moutons de race asiatique, nous avons injecté, dans le cerveau, 1 c. c. de sérosité rachidienne virulente. Les animaux n'ont présenté qu'une réaction féble. Leur sang, prélevé le 7^e jour, a tué le veau



COURBE 4.

Gazelle n° 1. Reçoit, le 4.XI. 1899, 1 c. c. de virus sous la peau. Le 8^e jour, diarrhée; le 10^e jour, mort dans le coma. A l'autopsie, congestion violente de l'intestin, tuméfaction des ganglions mésentériques, rate normale, foie un peu cireux, bile presque incolore et fluide. La caillette n'offre pas de lésions. 5 c. c. de sang, pris le 7^e jour, infectent l'animal 78:56.

COURBE 5.

Gazelle n° 2. Reçoit, le 1.XII. 1899, 1 c. c. de virus sous la peau. Le 6^e jour, inappétence et boursoufflement de la muqueuse gingivo-labiale. Le 8^e jour, érosions et diarrhée. Le 9^e jour, conjonctivite purulente, jetage, abattement extrême; mort dans la journée. A l'autopsie, congestion de la caillette et de l'intestin; pas d'autres lésions.

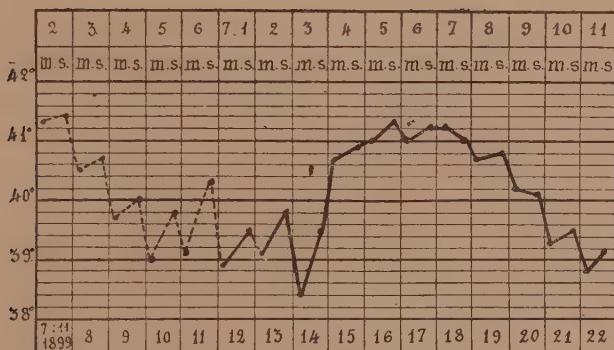
à la dose de 1 c. c. Un des moutons a été réinoculé après 38 jours (1 c. c. de liquide céphalo-rachidien dans le cerveau); il n'a pas réagi, mais 20 c. c. de son sang, prélevés le 7^e jour, ont vacciné un veau.

1 c. c. de sang, recueilli le 7^e jour sur un des 3 moutons mentionnés plus haut, n'a rien donné à un autre mouton

par la voie cérébrale. Le sang de ce second mouton, prélevé le 7^e jour et inoculé au veau sous le volume de 1 c. c., s'est montré inactif.

1 c. c. de sang, recueilli le 7^e jour sur un des 3 moutons, et inoculé dans le cerveau d'une chèvre de Malte, n'a produit qu'une légère réaction fébrile.

La peste bovine, comme nous l'avons indiqué antérieurement, se montre tellement grave chez les sujets tuberculeux que ceux-ci ne peuvent jamais être sauvés par le sérum. L'influence de la tuberculose ressortira également de l'expérience faite sur la chèvre 78-53 (*vide infra*). En présence de cette donnée, nous nous sommes demandé si, en combinant l'inoculation intracérébrale (la plus sévère de toutes) avec l'injection intraveineuse de *Streptothrix Nocardi*, on ne réussirait pas à



COURSÉ n° 6. *Mouton 48-49.*

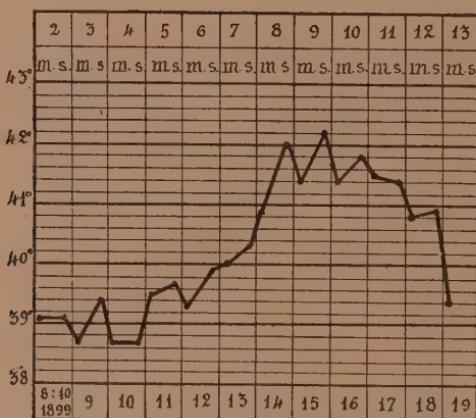
produire chez le mouton la peste bovine type. Deux expériences, identiques dans leurs résultats, sont venues démontrer que notre opinion était exacte. Nous relaterons en détail l'une de ces expériences.

Mouton 78-49. Animal de 23 kilogrammes, race asiatique. Le 6 novembre 1899 on émulsionne, dans 5 c. c. d'eau physiologique, 2 cultures sur gélose de *Streptothrix Nocardi* (géloses glycérinées, ayant séjourné 5 jours à 37°). On laisse déposer les grosses particules et on injecte, dans les veines, 4 c. c. du liquide surnageant. Il en résulte une réaction fébrile sans gravité. Le 12 novembre l'animal a perdu 3 kilogrammes. On lui inocule, dans le cerveau, 4 c. c. de liquide céphalo-rachidien virulent. Le 4^e jour, la fièvre s'allume ; le 6^e jour, apparaît

l'inappétence; le 7^e jour, on observe un boursouflement de la muqueuse gingivo-labiale; le 8^e jour, ce boursouflement aboutit à la formation d'érosions, en même temps que se manifeste de la diarrhée; le 9^e jour, les signes s'améliorent; les jours suivants, tout rentre dans l'ordre. (Voir courbe n° 6.)

Inoculations intra cérébrales à la chèvre. — On injecte 1 c. c. de sérosité rachidienne dans le cerveau d'une chèvre d'Anatolie. L'animal réagit par de la fièvre; le 7^e jour, 5 c. c. de son sang tuent un veau. Cette chèvre est réinoculée après 38 jours, (1 c. c. de liquide céphalo-rachidien dans le cerveau); elle présente un peu de fièvre et, le 8^e jour, 20 c. c. de son sang vaccinent un veau.

On injecte à une chèvre de Malte, en lactation et tuberculeuse (chèvre 78-53), 1 c. c. de sérosité rachidienne dans le cer-



COURBE n° 7. Chèvre 78-53.

veau. L'animal prend la peste bovine et en meurt. Voici son observation résumée.

Chèvre de 6-7 ans. Inoculée le 7 octobre 1899. Le 6^e jour, début de la fièvre; le 10^e jour, inappétence et abattement; le 12^e jour, boursouflement gingivo-labial et diarrhée; le 13^e jour, érosions, coma, mort. (Courbe n° 7.) A l'autopsie, on constate de la tuberculose du foie et du poumon droit; le foie est atrophié et un peu cireux, la vésicule biliaire vide. Dans la caillette, on note des érosions et de la tuméfaction des follicules clos. Pas de lésions intestinales. Congestion des reins, 1 c. c. de liquide céphalo-rachidien, injecté à un veau, lui donne la peste bovine.

1 c. c. du sang de la chèvre 78-53, recueilli à l'autopsie et

inoculé dans le cerveau d'une chèvre d'Anatolie, n'a produit qu'une réaction fébrile; 1 c. c. inoculé dans le cerveau d'une chèvre de Malte (race plus sensible) a déterminé une fièvre assez marquée, accompagnée de diarrhée transitoire.

1 c. c. du même sang, injecté dans le cerveau d'un mouton sain, n'a engendré qu'une affection fébrile sans gravité. Enfin, 1 c. c. du sang de 78-53, recueilli le 7^e jour et inoculé dans le cerveau d'un mouton atteint de lésions pulmonaires subaiguës, a tué l'animal en 7 jours et demi avec une courbe caractéristique. A l'autopsie, on s'est trouvé en présence d'une bronchopneumonie streptococcique, mais les cultures faites avec le cerveau sont demeurées stériles. Nous constatons donc, ici encore, l'influence des lésions antérieures sur la gravité de l'infection pestique.

VACCINATION PAR LA BILE

Nous nous contenterons de mentionner les faits suivants, nous proposant de revenir plus tard sur la théorie de la vaccination par la bile.

Inoculation de bile fraîche. — Elle nous a donné des résultats très variables, comme on pourra en juger par le résumé d'une de nos expériences. 4 animaux de race noire, âgés d'un an, reçoivent chacun 10 c. c. de bile (bile provenant d'un bœuf mort le 9^e jour, 6^e jour de la fièvre). Deux des veaux succombent, deux résistent. Ces derniers sont éprouvés le 10^e jour; l'un meurt, l'autre reste bien portant.

Inoculation de bile conservée un jour dans la glacière. — Elle n'a jamais été suivie de réaction, mais n'a point toujours conféré l'immunité.

Les résultats observés avec la bile des animaux morts du virus de passage sont donc bien différents de ceux qu'on obtient avec la bile des animaux morts de la maladie naturelle. Ils diffèrent également de ceux que nous avons notés au début de nos recherches, alors que les passages n'avaient pas été encore très nombreux. Cela prouve que, tout en restant fixe d'une manière générale, le virus s'est cependant modifié, dans le sens d'une plus grande activité, ainsi que nous le disions au début de ce travail.

Inoculation de bile glycérinée. — La bile glycérinée (10 c. c. de

bile et 5. c. c. de glycérine, — d'après Edington) s'est montrée vaccinante, même après 40 et 85 jours de conservation à la température ambiante. Ces résultats concordent avec ceux de M. Rogers, qui a vu la bile glycérinée conserver son pouvoir jusqu'à 162 jours.

Inoculation de bile desséchée (dans le vide, sur $\text{SO}_4 \text{H}_2$). — Ramenée au volume initial (10 c. c.) par dissolution dans l'eau distillée, elle a également vacciné les animaux après 40 et 85 jours (la conservation doit être, sans nul doute, indéfinie).

Inoculation de bile additionnée de sang. — Nous avons mêlé 1 à 5 c. c. de sang à 10 c. c. de bile. Le temps de contact (dans la glacière) a été en moyenne de 16 heures. Les mélanges n'ont ni infecté ni immunisé les animaux. Nous savions déjà, par les expériences des autres auteurs, qu'il devait en être ainsi.

Inoculation de bile normale additionnée de virus. — Comme nos devanciers, nous avons constaté à maintes reprises que la bile normale détruit la virulence, sans acquérir de propriétés vaccinantes. Une seule fois il a été possible d'immuniser un animal, en lui injectant un mélange de 9 parties de bile et d'une partie de liquide de lavage péritonéal. Le mélange était resté pendant 23 heures à 22°. L'animal, éprouvé le 10^e jour, a résisté, tandis que 3 témoins sont morts.

SÉROTHÉRAPIE

Préparation du sérum. — Nous ne reviendrons pas sur le procédé que nous avons indiqué dans notre premier mémoire et qui donne d'excellents résultats. Nous ferons simplement observer que, dans sa monographie intéressante sur la peste bovine, M. Kolle l'a indiqué et jugé d'une façon inexacte. Nous n'injectons en effet à chaque séance que du virus, et non du virus et du sérum; de plus, nous arrivons ainsi à obtenir un anti-corps très actif. Il serait vraiment extraordinaire que des inoculations massives et répétées se montrent inférieures à des inoculations répétées de quantités moindres de virus.

D'ailleurs, l'élévation du titre du sérum, régulièrement observée par nous, ne saurait laisser subsister le moindre doute. M. Kolle avance que notre sérum, employé au Soudan, a donné de médiocres résultats; les courbes suivantes (courbes n° 8, n° 9 et n° 10) prouvent qu'il n'était pas aussi mauvais que veut

bien le dire notre savant collègue, lequel ne l'a pas titré lui-même.

Nous persistons donc à affirmer que notre méthode, au moins aussi bonne que les autres, offre de plus l'avantage d'être très

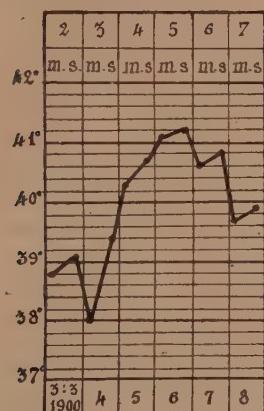


COURBE n° 8.

Animal 79-38. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 2.III. 1900, 3 c. c. de sérum (mélange N) et 2 c. c. de virus. Fièvre seule.

COURBE n° 9.

Animal 79-80. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 2.III. 1900, 10 c. c. de sérum (mélange N) et 2 c. c. de virus. Pas de réaction.



Animal 79-44. Témoin des précédents. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit le 2.III.1900, 2 c.c. de virus. Signes et lésions classiques. Mort, dans la nuit du 7^e au 8^e jour, avec sang virulent (a infecté l'animal 79-39).

COURBE n° 10. *Animal 79-44.*

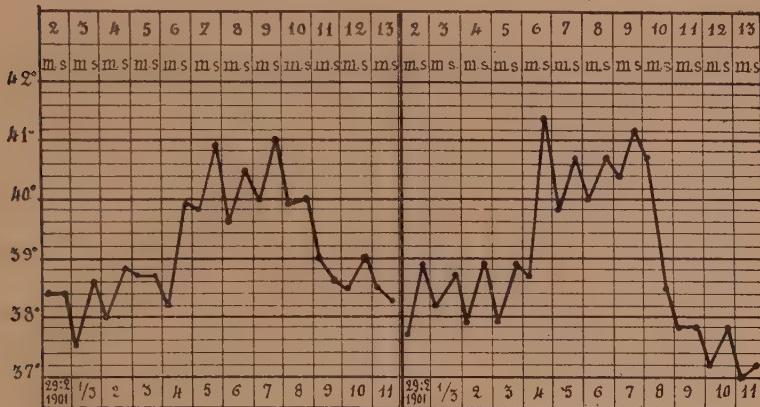
rapide. On prépare en peu de jours, grâce à elle, un sérum actif à la dose de 25 c. c. et rien n'est plus facile que d'augmenter ensuite son efficacité.

Mais, s'il est utile de commencer par des doses massives, il peut être avantageux de les diminuer ensuite, tout en rapprochant les inoculations (de manière que les animaux reçoivent toujours la même quantité de virus dans le même temps). Nous avons été amenés à procéder de la sorte pour faciliter la résorption du sang injecté, résorption qui finit par devenir de plus en plus lente, surtout chez certains animaux. En modifiant ainsi la technique, on remarque que les bœufs réagissent inconstamment et, lorsqu'ils réagissent, la fièvre est bien moins forte et moins durable qu'avec les fortes doses. Cependant, le sérum obtenu continue à augmenter d'activité¹.

Cherchant toujours à ménager le tissu cellulaire des animaux, en rendant la résorption du virus aussi rapide que possible, nous avons employé le plasma citraté (déjà indiqué dans notre premier mémoire); mais il nous a fallu l'abandonner, à cause de l'insuffisance de notre installation. C'est alors que nous avons eu recours au liquide de lavage péritonéal, exclusivement en usage depuis un an. Voici comment nous procédons pour l'obtenir. Lorsqu'un animal de passage commence à présenter de la diarrhée, on lui injecte, dans le péritoine, un mélange préparé en étendant de 3 volumes d'eau physiologique un volume de solution, légèrement alcaline, de peptone Martin, (obtenue par autodigestion de la caillette de veau). Le mélange, préalablement porté à 37°, est introduit dans la séreuse à la dose de 6 litres pour un veau d'un an (on augmente ou diminue la quantité, en proportion de la taille du sujet). Après 3 heures au moins, l'animal est sacrifié par hémorragie et l'on puise proprement le liquide intra abdominal. Celui-ci, d'aspect citrin, se coagule rapidement dans les vases où il a été reçu. On égoutte aseptiquement le caillot (volumineux, mais très léger), et on injecte le liquide clair qui en exsude. Toutes ces manipulations sont pratiquées fort habilement par le Dr Refik bey et le vétérinaire Refik-bey, assistés du vétérinaire Moustafa-bey, auxquels l'un de nous a confié la préparation du sérum antipesique. Si la sérothérapie a donné en Turquie d'aussi bons résultats dans la lutte contre le typhus contagieux, le mérite en revient donc, pour une grande part, à nos collaborateurs.

1. Nous avons aussi immunisé des animaux, avec de fortes doses, par la voie abdominale. C'est là un excellent procédé; d'ailleurs, selon nous, toutes les méthodes aboutissent finalement à des résultats identiques.

Le liquide de lavage péritonéal représente un virus parfaitement actif et d'une résorption excessivement rapide. Jamais il



COURBE n° 11.

Animal 74-145. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 28.II. 1901, 5 c. c. du sérum de l'animal n° 18 et 5 c. c. de virus. Fièvre seule.

COURBE n° 12.

Animal 74-144. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 28.II. 1901, 5 c. c. du sérum de l'animal n° 13 et 5 c. c. de virus. Fièvre seule.

n'a déterminé d'abcès chez les animaux inoculés. Il permet d'hyperimmuniser les bovidés avec le même succès que le sang citraté, et sans que les sujets réagissent jamais, particularité très intéressante au point de vue théorique. Il convient de noter toutefois que si les animaux ne présentent pas de réaction thermique, ils offrent par contre une réaction leucocytaire marquée, ainsi qu'il résulte des recherches du Dr Refik-bey (recherches qui seront publiées ultérieurement).

Nous injectons, dans une même séance, 2 à 3 litres de lavage et nous saignons les animaux le 10^e, le 15^e et le 20^e jour. Le jour de la dernière saignée (et après celle-ci), on injecte à nouveau 2 à 3 litres de lavage et ainsi de suite. On arrive par ce moyen disions-nous, à obtenir un anticorps très efficace. C'est ce que démontrent les courbes suivantes, qui ont trait au sérum de sujets traités exclusivement par le liquide de lavage. Ces courbes (n° 11, n° 12, n° 13, n° 14 et n° 15) indiquent également que le sérum chauffé (une heure à 58°) et le sérum sec n'ont rien perdu de leur activité originelle.

Peut-on produire un sérum pratiquement utilisable en moins

de 10 jours? L'observation suivante ne laisse aucun doute à ce sujet. Un animal d'Anatolie, âgé de 5 ans, reçoit 4 litres de



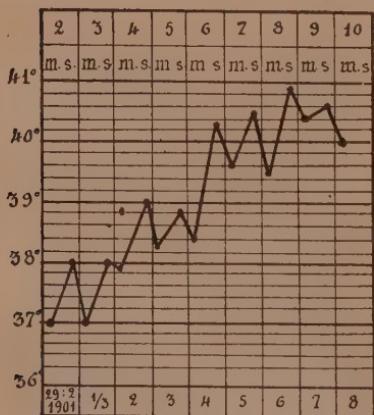
COURBE n° 13.

Animal 74-149. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 28. II. 1901, 5 c. c. de sérum du l'animal n° 13. (Sérum chauffé une heure à 58°) et 5 c. c. de virus. Fièvre seule.

COURBE n° 14.

Animal 74-196. Race d'Anatolie, 1 an. Reçoit, le 18. II. 1901, 5 c. c. du sérum de l'animal n° 13. (Sérum sec 0,15, dissous dans 5 c. c. d'eau physiologique) et 5 c.c. de virus. Fièvre seule.

sang virulent et 250 c. c. d'un sérum peu actif (au début de nos recherches). Il n'offre qu'une réaction fébrile modérée. Le 4^e jour, son sérum ne vaccine pas (méthode Kolle et Turner) à



COURBE n° 15.

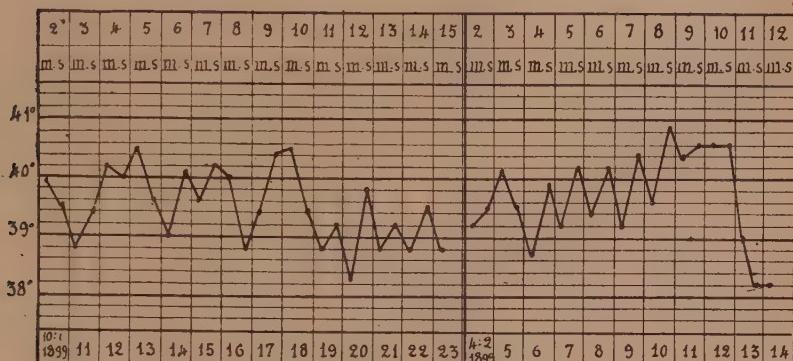
Animal 74-165. Race d'Anatolie, 1 an. Témoin des quatre précédents. Reçoit, le 28. II. 1901, 5 c. c. de virus. Signes de lésions classiques. Mort le 10^e jour.

la dose de 25 c. c.; le 6^e jour, il vaccine, à cette dose, un sujet

de race très sensible (Crimée). Il s'en faut cependant que l'expérience réussisse constamment.

Les bovidés sont-ils seuls susceptibles de fournir du sérum antipestique ?

Le cheval (une expérience) nous a donné des résultats assez difficiles à interpréter pour le moment, mais que nous considérons, jusqu'à nouvel ordre, comme négatifs. Le mouton, auquel on inocule 1 litre de sang virulent, offre, le 15^e jour, un sérum parfaitement actif. (Courbes n° 16 et n° 17.) Par contre, la chèvre,



COURBE 16.

Mouton A. Race asiatique, 22 kilos. Reçoit, sous la peau, le 9. I. 1899, un litre de sang citraté du bœuf 73, 76. Fièvre seule.

(Une chèvre d'Anatolie, de 39 kilos, reçoit, le même jour, un litre du même virus. Elle présente de la fièvre, mais son sérum n'acquiert aucun pouvoir immunisant.)

COURBE 17.

Animal 75-53. Race d'Anatolie, 2 ans. Inoculé, le 3. II. 1899, avec 1 c. c. de virus et 25 c. c. de sérum du mouton A, prélevé le 15^e jour. Fièvre seule. (Avec la même dose du même virus, on a inoculé 7 autres animaux, qui sont tous morts.)

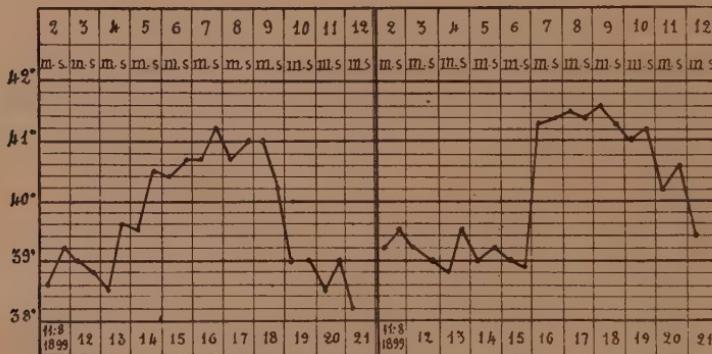
à laquelle on injecte jusqu'à 2 litres de sang virulent, ne produit aucun anticorps, même après plus de 15 jours. Enfin, le sérum d'une oie de 5 1/2 kilogrammes, qui avait reçu 250 c. c. de sang virulent dans le péritoine, s'est montré inefficace le 16^e jour, à la dose de 30 c. c.

Propriétés du sérum. — Nous ne reviendrons pas sur son pouvoir préventif et curatif, bien connu aujourd'hui. Rappelons que, pour le titrage, nous employons toujours la méthode Kolle et Turner, et que nous prenons comme test-objet, ainsi qu'on a pu le voir, un veau de la race d'Anatolie, âgé de 1 an. Inutile de dire que l'épreuve est toujours faite avec le virus de passage:

Quelle que soit la méthode d'hyperimmunisation usitée, il est impossible d'obtenir des *mélanges* actifs à plus de 5 c. c. Nous avons bien rencontré parfois des animaux qui fournissaient un sérum actif à 2,5 c. c., mais, *en moyenne*, il ne faut point compter dépasser la limite que nous avons indiquée. Cette limite, par contre, n'est pas difficile à atteindre.

En pratique, nous nous en tenons à l'application du sérum seul, comme moyen préventif. L'immunité, ainsi créée, a toujours permis aux animaux de traverser victorieusement la période épidémique. Cela n'implique de notre part, répétons-le, aucune défiance vis-à-vis de la méthode Kolle et Turner, que nous continuons à considérer comme excellente.

Au point de vue curatif, nous avions abandonné l'injection intraveineuse, qui détermine parfois de l'hémoglobinurie, d'ailleurs sans gravité, hémoglobinurie due incontestablement à



COURBE 18.

Animal 77-42. Race mixte (Crimée-Anatolie), 1 an. Reçoit, le 10. VIII. 1899, 10 c. c. de sérum (*mélange E*) et 2 c. c. de virus. Fièvre seule.

COURBE 19.

Animal 77-8. Reçoit, le 10. VIII. 1899, 10 c. c. de sérum (*mélange E*) étendus de 90 c. c. de sérum normal de bœuf. Signes et lésions classiques. Mort le 12^e jour.

l'effet d'une isolysine. Maintenant que nos animaux sont immunisés avec le lavage péritoneal, il n'y aurait plus, croyons-nous, d'inconvénient à reprendre la voie vasculaire.

On sait que, d'après M. Wassermann, le peu d'efficacité de certains sérums spécifiques serait dû à leur teneur relativement trop faible en alexine. Pendant l'immunisation, l'anticorps augmente en effet de plus en plus, tandis que la substance bacté-

ricide demeure stationnaire. Il s'ensuivrait que la majeure partie de la matière préventive, ne pouvant se combiner à l'alexine, resterait inactive. D'où l'idée d'ajouter du sérum neuf au sérum spécifique. Sans croire beaucoup à la réussite d'une pareille expérience, nous avions cependant pensé à la faire, et cela avant même que parût le travail du savant allemand. Les résultats ont été exactement opposés à ceux qu'indique la théorie, ainsi que le démontrent les faits suivants, où l'addition de sérum neuf a complètement paralysé l'action de l'anticorps spécifique.

Sérum employé curativement. — Le 1^{er} juin 1900, on infecte 2 animaux de race très sensible. Le 6^e jour (2^e jour de la fièvre), on injecte à l'un d'eux (80-92) 100 c. c. de sérum antipestique et à l'autre (80-71) 100 c. c. de sérum antipestique mélangés à 320 c. c. de sérum normal de bœuf (sérum frais). L'animal 80-92 guérit facilement; au contraire, l'animal 80-71 succombe le 9^e jour, sans que la maladie ait été le moins du monde influencée par le sérum.

Sérum employé préventivement. — On inocule, à 2 animaux de race très sensible, 2 c. c. de virus. En même temps, l'un (77-42) reçoit 10 c. c. de sérum antipestique et l'autre (77-8) 10 c. c. de sérum antipestique dilués dans 90 c. c. de sérum normal de bœuf (sérum frais). Le premier n'offre que de la fièvre, l'autre prend une affection mortelle (courbes n° 18 et n° 19).

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE ET A LA CLASSIFICATION DES SEPTICÉMIES HÉMORRAGIQUES LES « PASTEURELLOSES »

PAR M. J. LIGNIÈRES

Chef des travaux à l'École vétérinaire d'Alfort.

Tout microbe fixant surtout aux deux extrémités les couleurs ordinaires d'aniline, se décolorant par les méthodes de Gram et de Weigert, poussant sur gélatine sans produire de liquéfaction, et capable de provoquer dans l'organisme des lésions aiguës septicémiques, recevait jusqu'ici le nom de bactérie ovoïde, et l'affection dont il était l'agent spécifique rentrait dans le groupe des septicémies hémorragiques.

Ces quatre caractères suffisaient aux exigences de la classification qui, encore aujourd'hui, est admise par presque tous les auteurs.

En se contentant d'un nombre aussi restreint de caractères, on élargissait démesurément le cadre de ce groupe, au point de le voir envahir des territoires qui ne devaient jamais lui appartenir. Ainsi la conception si juste de Hueppe (1886) était faussée, et l'on voyait figurer côté à côté une foule de microbes sans parenté aucune.

Mes études sur la fièvre typhoïde du cheval¹, l'entiqué, la diarrhée des veaux et le lombriz² m'ont permis de déterminer exactement les caractères morphologiques et biologiques de leurs microbes spécifiques et de reconnaître leur parenté étroite.

A côté de ces affections, je plaçai bientôt le choléra des poules, la maladie des chiens et une maladie des porcs (*Schweine-seuche*) confondue généralement en France avec le hog-choléra³. Enfin, je proposai de réunir dans un même groupe, sous le nom

1. Étiologie de la fièvre typhoïde du cheval, *Société centrale de Médecine vétérinaire*, 10 juin et 22 juillet 1897.

2. Contribution à l'étude de la lombriz et de la diarrhée des jeunes bovidés et de l'entiqué, *Société centrale des Méd. vétér.*, 30 décembre 1898.

3. Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorragiques. Association des Haciendados, Buenos-Ayres 1900. *Société centrale de médecine vétérinaire*. Séance des 28 mai, 14 et 21 juin, 12 et 16 juillet 1900.

de pasteurelloses, toutes ces affections déterminées par des microbes ayant une grande parenté : les pasteurella¹.

Voici, tels que je les ai établis, les caractères spécifiques invariables des pasteurella:

Cocco-bacilles sans mouvement de translation, ne prenant pas le Gram, très polymorphes, donnant des formes d'involution, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait dont la réaction reste normale, ne donnant pas de culture visible sur pomme de terre naturelle² ni d'indol dans le bouillon pancréatique³, ne rougissant pas la gélose de Wurtz, surtout aérobies, mais aussi anaérobies, présentant une odeur *sui generis* dans les cultures. Pas de spores, pas de cils, virulence très variable, en général grande. Par injection intraveineuse, affinité spéciale pour les synoviales tendineuses et articulaires.

Les caractères que je viens de mentionner sont fixes, l'absence de l'un ou de l'autre exclut le microbe du groupe des pasteurella tel que je l'entends aujourd'hui. Comme indication générale, on peut mentionner que ces microbes se colorent facilement aux deux extrémités en laissant le centre clair, qu'ils ne se colorent pas aussi aisément que d'autres microbes, le coli par exemple; qu'ils poussent parfois discrètement sur les milieux de culture habituels, que dans certains cas, enfin, ils sont très difficiles à mettre en évidence au sein de l'organisme.

Actuellement, le groupe des pasteurelloses comprend :

1^o La pasteurellose aviaire dont le type est le choléra des poules, capable d'infecter naturellement tous les oiseaux et le lapin (septicémie des lapins de Smith, Thoinot et Masselin);

2^o La pasteurellose porcine connue sous le nom de *Schweinepest*, *swine-plague*, pneumo-entérite, *schweineseptikämie*;

3^o La pasteurellose ovine ou septicémie hémorragique du

1. J'ai, de plus, jeté les bases d'un autre groupe, celui des salmonelloses, ayant pour type le microbe du hog-choléra de Salmon.

2. Afin d'éviter tout malentendu concernant la culture sur pomme de terre, il est bien établi que j'envisage la pomme de terre naturelle dont la réaction normale est légèrement acide; dans ces conditions, on ne voit pas se former de culture à 37°-38°. Si cependant on racle la surface avec la palette de platine, on ramène une pulpe où les microbes peuvent être assez nombreux. Ils représentent ceux qui ont été ensemencés ou bien une insignifiante pullulation toujours invisible à l'œil nu produite à la faveur du bouillon, de particules de gélose ou de produits organiques portés sur la pomme de terre au moment de l'ensemencement.

3. Pour reconnaître l'indol, j'ai toujours employé le procédé de Pétré : culture dans le bouillon peptone pancréatique, puis, après 3 ou 4 jours, addition de 1 e. c. de solution fraîchement préparée d'azolite de potasse à 2/10,000 plus quelques gouttes d'acide sulfurique pur.

mouton, pneumo-entérite, *lombriz*, pneumonie infectieuse des chèvres;

4^o La pasteurellose bovine, dans laquelle nous trouvons la même affection décrite sous des noms différents : *Wild-* et *Rinderseuche*, septicémie hémorragique des bovidés, pneumo entérite du bœuf, *barbone* des buffles, pleuro-pneumonie septique des veaux, entiqué ;

5^o La pasteurellose équine, qui comprend la fièvre typhoïde du cheval ou influenza sous toutes ses formes et complications ; pleuro-pneumonie contagieuse, pneumonie infectueuse, pneumo-entérite, etc. ;

6^o La pasteurellose canine ou maladie des jeunes chiens dans toutes ses manifestations¹.

Le rôle des pasteurella est extrêmement différent suivant les cas. Ou bien elles envahissent l'organisme entier en déterminant des accidents graves, à marche souvent très rapide ; ou encore leur action peut être fugace, éphémère, cachée, légère et de longue durée ; elles jouent alors un rôle secondaire, préparatoire, passif. Dans le premier cas, on retrouve assez facilement les pasteurella au sein des tissus ; dans le second, on éprouve parfois des difficultés insurmontables pour les déceler.

Grâce à ces recherches, j'ai pu non seulement rassembler un certain nombre d'affections ayant une parenté étroite, mais il m'a été aussi possible d'en séparer complètement d'autres, comme le hog-choléra-B. suipestifer, — la septicémie des furets, certaines septicémies des lapins, beaucoup d'affections des oiseaux, etc..., qui jusqu'alors étaient rangés à côté des pasteurelloses. Enfin, j'ai pu rétablir les caractères exacts de plusieurs microbes, dits spécifiques, mais mal déterminés.

Par ce court résumé, j'ai eu seulement l'intention d'indiquer les conclusions les plus importantes de mes recherches sur les septicémies hémorragiques. Quant aux détails, on les trouvera dans les mémoires que j'ai publiés à Buenos-Aires et à la Société centrale de médecine vétérinaire.

1. Dans le travail qui a trait à la maladie des chiens, je démontre expérimentalement le mécanisme de la pneumonie dite *a frigore*.

